

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta
Katedra experimentální biologie rostlin

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Anatomie a fyziologie rostlin



Bc. Marta Kudláčková

Vliv mykorhizních a saprotrfních hub na výnosové vlastnosti a příjem
dusíku u rajčete a póru

The effect of mycorrhizal nad saprotrophic fungi
on yield properties and nitrogen uptake of tomato and leek plants

Diplomová práce

Školitel: doc. RNDr. Jana Albrechtová, Ph.D.

Praha, 2011

Školitel diplomové práce:

doc. RNDr. Jana Albrechtová, Ph.D.
Katedra experimentální biologie rostlin, Přírodovědecká fakulta,
Univerzita Karlova v Praze
Botanický ústav AVČR, v.v.i.

Konzultant diplomové práce:

RNDr. Miroslav Vosátka, CSc.
Botanický ústav AVČR, v.v.i.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 29.8.2011

Marta Kudláčková

Poděkování

Děkuji své školitelce doc. RNDr. Janě Albrechtové, Ph.D. za vstřícnost a množství odborných rad, konzultantovi RNDr. Miroslavu Vosátkovi, CSc. za cenné připomínky.

Dále děkuji všem členům Katedry experimentální biologie rostlin PřF UK, především Mgr. Drahomíře Bartákové, Eleně Kozlové, Mgr. Evě Husákové, RNDr. Editě Tylové Ph.D., RNDr. Zuzaně Lhotákové, Ph.D. a Jiřímu Černému. Můj velký dík dále patří všem, kteří mi pomohli při sklizení experimentálních rostlin, kromě některých výše jmenovaných také Sylvě Přerostové, Aloisu Hilgertovi Delgado, Dimitriji Tyčovi, Lence Stillerové, Báře Gorčicové a Ing. Milanu Urbanovi. S poděkováním bych chtěla vzpomenout také na RNDr. Lubomíra Daňka.

Děkuji Mgr. Ivaně Raimanové, Ph.D. z Výzkumného ústavu rostlinné výroby nejen za analýzy vzorků a RNDr. Aleši Látrovi, Ph.D. z firmy Symbiom.

V neposlední řadě děkuji rodině a Romanu Koubovi za trpělivost a podporu.

Práce byla vypracována v rámci projektu OC09057 MYKOTECH2 programu MŠMT COST ve spolupráci s firmou Symbiom, s.r.o.

Seznam zkratek

AM – arbuskulární mykorhizní

AMT – transportér pro amonný ion (ammonium transporter)

APC – atom%

cv. – kultivar (cultivar)

DW – suchá hmotnost (dry weight)

FW – čerstvá hmotnost (fresh weight)

HATS – vysokoafinitní transportní systémy (high-affinty transport systems)

IRMS – isotope ratio mass spectrometer

LATS – nízkoafinitní transportní systémy (low-affinity transport systems)

MHB – pomocné bakterie pro mykorhizu (mycorrhiza helper bacteria)

NRT – transportéry pro dusičnanový ion (nitrate transporter)

PGPR – bakterie stimulující růst rostlin (plant growth promoting rhizobacteria)

Pi – anion kyseliny fosforečné (inorganic phosphate)

polyP – polyfosfát

PR proteiny – pathogenesis-related proteins

Ri T-DNA – root-inducing transferred-DNA

rnc – reduced mycorrhizal colonization

Obsah

1	ABSTRAKT	7
2	ABSTRACT	8
3	ÚVOD	9
4	PŘEHLED LITERATURY	11
4.1	MYKORHIZNÍ SYMBIÓZA	11
4.2	PRODUKCE RAJČETE A PÓRU A JEJICH VÝŽIVOVÉ VLASTNOSTI	13
4.3	VLIV MYKORHIZNÍCH HUB NA ROSTLINY	14
4.3.1	<i>Zlepšení příjmu živin</i>	<i>14</i>
4.3.1.1	Příjem fosforu mykorhizními rostlinami	14
4.3.1.2	Příjem dusíku mykorhizními rostlinami	15
4.3.1.2.1	Příjem dusíku kořeny rostlin	15
4.3.1.2.2	Příjem dusíku zprostředkovaný mykorhizními houbami	16
4.3.1.2.2.1	Příjem a přenos anorganického dusíku mykorhizními houbami	16
4.3.1.2.2.2	Příjem dusíku mykorhizními houbami z organických zdrojů	18
4.3.1.2.2.3	Vliv hnojení dusíkem na mykorhizní symbiózu	20
4.3.1.2.3	Využití ¹⁵ N (a ¹³ C) při studiu příjmu dusíku	21
4.3.2	<i>Zvýšení odolnosti vůči abiotickým a biotickým stresům</i>	<i>22</i>
4.3.3	<i>Zvýšení výnosů u rajčete a póru</i>	<i>23</i>
4.3.4	<i>Změny výživových vlastností výnosové části rostlin</i>	<i>25</i>
4.4	INTERAKCE MEZI MYKORHIZNÍMI HOUBAMI A DALŠÍMI PŮDNÍMI ORGANIZMY A JEJICH VLIV NA ROSTLINY	26
4.4.1	<i>Půdní bakterie</i>	<i>26</i>
4.4.2	<i>Houby</i>	<i>29</i>
4.4.3	<i>Půdní bezobratlí</i>	<i>32</i>
4.4.4	<i>Organická hmota jako zdroj živin, půdní mikroorganismy a rostliny</i>	<i>33</i>
4.5	VYUŽITÍ MYKORHIZNÍ SYMBIÓZY V ZEMĚDĚLSTVÍ	34
5	MATERIÁL A METODY	36
5.1	POKUS 1	36
5.2	POKUSY 2, 3, 4 A 5	38
5.2.1	<i>Použité organismy</i>	<i>38</i>
5.2.2	<i>Upořádání pokusů 2 a 3</i>	<i>38</i>
5.2.3	<i>Upořádání pokusů 4 a 5</i>	<i>41</i>
5.2.4	<i>Stanovení morfologických parametrů</i>	<i>45</i>
5.2.4.1	Zjištění tloušťky listů póru	46

5.2.5	Stanovení mykorhizní kolonizace	46
5.2.5.1	Barvení mykorhizních kořenů	46
5.2.5.2	Průsečíková metoda pro stanovení mykorhizní kolonizace	47
5.2.6	Izotopové a prvkové analýzy.....	47
5.2.7	Stanovení antioxidační aktivity.....	47
5.3	STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ	47
6	VÝSLEDKY	48
6.1	VÝBĚR METODY PRO PŘÍPRAVU BIOMASY ZNAČENÉ ^{15}N	48
6.2	KOLONIZACE KOŘENŮ ROSTLIN MYKORHIZNÍMI HOUBAMI	48
6.3	RŮST ROSTLIN RAJČETE	50
6.3.1	Pokus 2	50
6.3.2	Pokus 4	56
6.4	RŮST ROSTLIN PÓRU.....	61
6.4.1	Pokus 3	61
6.4.2	Pokus 5	64
6.5	OBSAH ^{15}N , CELKOVÉHO DUSÍKU A ^{13}C	68
6.6	ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA.....	73
6.7	SHRNUTÍ VÝSLEDKŮ.....	74
7	DISKUZE.....	76
7.1	MYKORHIZNÍ KOLONIZACE	76
7.2	PŘENOS DUSÍKU Z DODANÉ ORGANICKÉ HMOTY DO ROSTLIN	77
7.2.1	Metodické přístupy při studiu transportu ^{15}N	77
7.2.2	Přenos dusíku z dodané organické hmoty a jeho celkový obsah a koncentrace v rostlinách. 77	
7.2.3	Forma dusíku transportovaného do rostlin	80
7.3	VÝNOSY A RŮST ROSTLIN	81
8	SOUHRN	84
9	SEZNAM LITERATURY	85

1 Abstrakt

V současné době se hledají alternativní přístupy k produkci zemědělských plodin, které by byly v souladu s trvale udržitelným rozvojem. Tato práce byla zaměřena na testování organického pěstování rajčete (*Solanum lycopersicum* L.) a póru (*Allium porrum* L.) s využitím organického hnojení biomasou kukuřice (*Zea mays* L.), mykorhizních hub a saprotrfních hub. Ve skleníkových podmínkách byl sledován vliv různých kombinací mikrobiálního ošetření na příjem dusíku a růstové a výživové vlastnosti rostlin. Dodaná organická hmota byla značena stabilním izotopem dusíku ^{15}N a od kořenového systému rostlin byla oddělená nylonovou membránou, kterou mohou prorůst hyfy mykorhizních hub, ale ne kořeny rostlin.

V prvním roce se varianty lišily přítomností nebo nepřítomností těchto tří faktorů: organická hmota, saprotrfní houba *Agrocybe* sp. a mykorhizní houba *Glomus mosseae* (Nicolaj & Gerd.) Gerd. & Trappe. Inokulace houbou *Agrocybe* sp. nebo současně i mykorhizní houbou *G. mosseae* zvýšila růst rostlin rajčete kultivovaných v přítomnosti organické hmoty. Výnosy rajčete nebyly průkazně zvýšeny. Suchá hmotnost prýtu póru byla vyšší při ošetření houbou *G. mosseae* spolu s dodáním organického materiálu. Mikrobiální inokulace neměla vliv na příjem dusíku (^{15}N) z organického zdroje.

V dalších pokusech obsahovaly všechny varianty organickou hmotu a různé kombinace mikroorganismů (saprotrfní houby *Thermomyces lanuginosus* Tsikl. nebo *Gymnopilus* sp. a mykorhizní houby *G. mosseae* nebo směs mykorhizních hub). Uspořádání pokusů bylo upraveno tak, aby se zabránilo samovolnému pohybu dusíku. Obohacení plodů rajčete izotopem ^{15}N bylo vyšší v přítomnosti saprotrfních hub, celkový obsah dusíku, jeho koncentrace ani růstové a výnosové parametry ovlivněny nebyly. U rostlin póru byl pozorován synergický pozitivní vliv duálního ošetření na příjem dusíku z organického zdroje (^{15}N) a výnosové vlastnosti, především při inokulaci saprotrfní houbou *T. lanuginosus* spolu s mykorhizní houbou *G. mosseae* nebo směsí mykorhizních hub. Mikrobiální inokulace neovlivnila antioxidační aktivitu póru.

Naše studie ukázala pozitivní vliv dodané organické hmoty rostlinného původu spolu s inokulací vhodnou kombinací půdních mikroorganismů na výnosy póru.

Klíčová slova

mykorhiza, rajče *Solanum lycopersicum*, pór *Allium porrum*, *Glomus*, *Agrocybe* sp., *Thermomyces lanuginosus*, *Gymnopilus* sp., příjem dusíku, organické hnojení, ^{15}N

2 Abstract

Currently looking for alternative approaches to crop production which would be in accord with sustainable development. The present thesis was aimed on testing of organic cultivation of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and leek (*Allium porrum* L.) by using amendment with organic maize biomass (*Zea mays* L.), mycorrhizal fungi and saprotrophic fungi. The effects of different combinations of microbial inoculations on nitrogen uptake, plant growth and yield were investigated in greenhouse conditions. Supplied ^{15}N -labelled organic matter was separated from the root system by a nylon mesh which permitted only fungal hyphae to pass through but not plant roots.

In the first year experiments the treatments differed in the presence or absence of three factors: organic matter, saprotrophic fungus *Agrocybe* sp. and mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* (Nicolaj & Gerd.) Gerd. & Trappe. Plant inoculation with *Agrocybe* sp. alone or together with *G. mosseae* increased plant growth of tomato in the presence of organic matter. Tomato yield were not increased significantly. Shoot dry weight of leek increased when plants were treated with mycorrhizal fungus *G. mosseae* and organic matter. Microbial inoculation did not influence nitrogen (^{15}N) uptake from the organic source.

In following experiments, all treatments contained organic matter and different combinations of microorganisms (saprotrophic fungi *Thermomyces lanuginosus* Tsikl. or *Gymnopilus* sp. and mycorrhizal fungi *G. mosseae* or mixture of mycorrhizal fungi). Experimental design was modified to prevent spontaneous nitrogen diffusion. The ^{15}N enrichment of tomato fruits increased in the presence of saprotrophic fungi, nitrogen content and concentration, plant growth and yields did not differ. A synergistic positive effect of dual inoculation was observed for leek on nitrogen uptake from organic matter and yields especially for plants inoculated with saprotrophic fungus *T. lanuginosus* and mycorrhizal fungus *G. mosseae* or mixture of mycorrhizal fungi. Microbial inoculation did not influence an antioxidant activity of leek.

The present study showed a positive effect of the supplied organic plant biomass accompanied with inoculation with a proper combination of soil microorganisms on leek yield parameters.

Key words

Mycorrhiza, tomato *Solanum lycopersicum*, leek *Allium porrum*, *Glomus*, *Agrocybe* sp., *Thermomyces lanuginosus*, *Gymnopilus* sp., nitrogen uptake, organic fertilization, ^{15}N

3 Úvod

S nárůstem světové populace dochází k intenzifikaci zemědělské rostlinné produkce. Konvenční zemědělství se soustředí na maximalizaci výnosů, která je spojená mimo jiné se značným využíváním minerálních hnojiv, pesticidů i energie z neobnovitelných zdrojů, tedy zásahů nepříznivých pro prostředí. Tyto vstupy vedou k zátěži a znečišťování životního prostředí, mohou způsobovat snižování kvality půdy, především její biotické složky včetně symbiotických mykorhizních hub. Hledají se proto nové alternativní přístupy, které by byly v souladu s myšlenkou trvale udržitelného rozvoje a omezily by zatěžování životního prostředí, ale současně pokud možno nesnížily výnosy při zachování ekonomické udržitelnosti.

Součástí možného řešení může být mykorhizní symbióza, vzájemně prospěšný vztah mezi rostlinami a houbami. Mykorhizní houby mohou transportovat živiny z velkého objemu půdy a zlepšovat tak výživu rostlin, navíc mohou mít pozitivní vliv na fyziologické vlastnosti podmiňující jejich odolnost vůči řadě biotickým i abiotickým stresům. Kromě zvýšení růstu a výnosů mykorhizních rostlin je v poslední době pozornost soustředěna i na pozitivní ovlivnění nutriční hodnoty plodin, kdy bylo zaznamenáno, že může docházet ke zvýšení obsahu některých prvků i sekundárních metabolitů včetně antioxidantů ve výnosových částech rostlin.

Aby bylo možné využívat výhody plynoucí z mykorhizní symbiózy v zemědělské produkci, je obvykle potřeba, aby v půdě byla nízká hladina dostupného fosforu. Dodání organického, pomalu rozpustného hnojiva zajišťuje postupné uvolňování živin, které za přispění mykorhizních hub mohou být účinně přenášeny do hostitelských rostlin. Inokulace dodávané organické hmoty saprotrofními houbami vhodnými pro štěpení dané organické hmoty mohou celý systém zefektivnit.

Tato diplomová práce byla vypracována jako součást projektu OC09057 MYKOTECH2 s názvem Vývoj trvale udržitelného produkčního schématu vybraných druhů zeleniny na bázi mykorhizní biotechnologie. Cílem tohoto projektu bylo vytvoření pěstebního postupu pro použití v zemědělství k trvale udržitelnému pěstování zeleniny s využitím mikrobiálních inokulací a dodané organické, pomalu rozložitelné hmoty.

V rámci diplomové práce byl ve skleníkových podmínkách testován vliv mikrobiálního ošetření (saprotrofní a mykorhizní houby) a organického hnojení rostlinnou biomasou na růst a výnosové vlastnosti rajčete a póru. Pro důkaz příjmu dusíku z dodané rostlinné biomasy byl využit modelový kultivační systém s kompartmenty oddělenými

nylonovou sítí, která umožňuje prorůstání pouze houbového mycelia, ale ne kořenů rostlin, se současným využitím značení stabilním izotopem dusíku.

Cíle diplomové práce

1. Testování organického pěstování rajčete a póru s využitím organického hnojení a očkování saprotrófními a mykorhizními houbami
2. Sledování vlivu synergického působení saprotrófních a mykorhizních hub a současného dodání organické hmoty na příjem dusíku rostlinou a na výnosové vlastnosti rajčete a póru

Testované hypotézy

1. Mikrobiální inokulace spolu s organickou hmotou zlepšuje příjem živin a výnosové vlastnosti rajčete a póru
2. Největší pozitivní vliv na rostliny bude mít kombinovaná duální inokulace (mykorhizní houba-saprotrófní houba) spolu s dodanou organickou hmotou

4 Přehled literatury

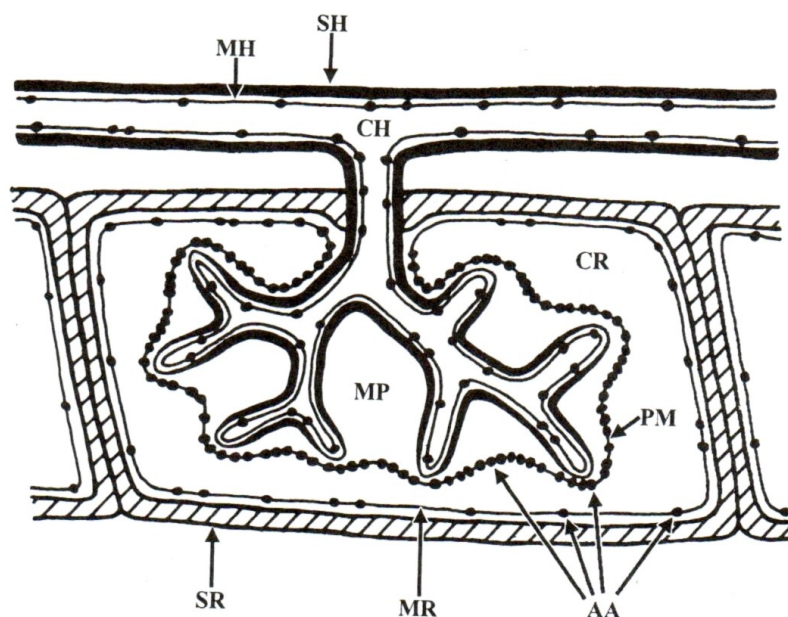
4.1 Mykorhizní symbióza

Termín mykorhiza vznikl odvozením z řeckých slov mykes (houba) a rhiza (kořen). Mykorhizní symbióza je v přírodě běžný obvykle mutualistický vztah mezi rostlinou a houbou. Hyfy mykorhizních hub propojují kořeny rostlin s okolní půdou. Rozlišují se dva základní typy symbióz: 1) edomykorhizní, která se vyznačuje pronikáním hyf mykorhizních hub do kořenových buněk rostlin a dále se dělí na další typy, například arbuskulární, erikoidní a orchideoidní mykorhizní symbiózu, a 2) ektomykorhizní, která je typická tím, že hyfy kolonizují pouze mimobuněčné prostory (Gryndler et al., 2004).

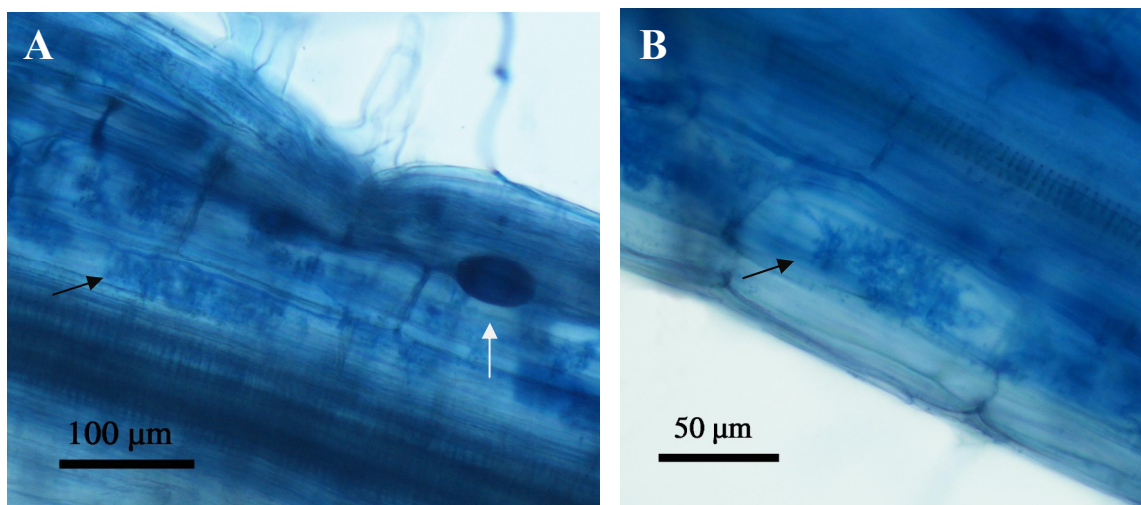
Arbuskulární mykorhizní (AM) symbióza je nejstarší, nejrozšířenější a nejméně specifická. Vznikla před více než 400 mil. lety, když rostliny přecházely na souš (Simon et al., 1993; Remy et al., 1994). AM houby mohou interagovat s rostlinami z více než 80 % čeledí cévnatých rostlin. Předpokládá se, že všechny houby tvořící AM symbiózu patří do kmene *Glomeromycota* a jsou nepřehrádkované, asexuální a obligátně symbiotické. Mykorhizní houby získávají od rostliny část jejích asimilátů a za to ji zásobují minerálními živinami (Schussler et al., 2001; Gryndler et al., 2004).

Ke kolonizaci kořenů rostliny může dojít, když jsou v půdě přítomny spory (klidová stadia), vegetativní (dočasně žijící AM houba bez hostitelské rostliny) nebo už symbiotická mycelia (podhoubí) mykorhizních hub. Ze spor klíčí hyfy, které se rozrůstají do mycelia. Při kontaktu AM houby s kořenem rostliny vzniká apresorium (terček) a z něj prorůstá jedna nebo několik hyf přes rhizodermis do primární kořenové kůry, kde vytváří intraradikální (kořenové) mycelium, arbuskuly a vezikuly. Vezikuly (obr. 2A), kulovitě nebo nepravidelně rozšířené hyfy, patrně fungují jako zásobní struktury. Arbuskuly (obr. 1 a 2) vznikají pronikáním hyf přes rostlinné buněčné stěny do kortikálních buněk (buněk primární kůry kořene), kde se keříčkovitě větví. Tyto útvary, vyznačující se velkým povrchem, jsou odděleny od cytoplasmy hostitelské buňky její cytoplasmatickou membránou, tzv. periarbuskulární membránou. Prostor mezi buněčnou stěnou houby a membránou hostitele se nazývá interfaciální matrix (mezilehlý prostor). Arbuskuly jsou místem výměny látek a informací mezi mykorhizními partnery (Gryndler et al., 2004).

Extraradikální (mimokořenové) mycelium mykorhizních hub podstatně zvětšuje objem půdy, z kterého mohou rostliny získávat minerální živiny. AM houby transportují látky na relativně dlouhé vzdálenosti – několik cm (Gryndler et al., 2004).



Obr. 1: Schéma znázorňuje arbuskulu. SH – buněčná stěna houbové buňky, MH – cytoplazmatická membrána houbové buňky, CH – cytoplazma houbové buňky, CR – cytoplazma rostlinné buňky, PM – periarbuskulární membrána (vchlípená membrána rostlinné buňky), MP – mezilehlý prostor (interfaciální matrix), SR – buněčná stěna rostlinné buňky, MR – cytoplazmatická membrána rostlinné buňky, AA – lokalizace ATPázové aktivity (mimo jiné po okyselování mezilehlého prostoru). Převzato z Gryndler et al. (2004).



Obr. 2: Mykorhizní kořeny rajčete (A) a póru (B) s arbuskulemi (černá šipka) a vezikulou (bílá šipka). Barveno trypanovou modří, světlé pole.

AM houby jsou mnohoaderné a v rámci druhu často geneticky různorodé. Jednotlivé izoláty získané z různých lokalit se proto mohou vzájemně lišit a mít rozdílný vliv na hostitelské rostliny (Gryndler et al., 2004). Izoláty jsou sdružovány v genových bankách (například BEG – The International Bank for the Glomeromycota¹; zkratka z angl. „Bank of European Glomales“; nebo INVAM - Interntional Culture Collection of

¹ <http://www.kent.ac.uk/bio/beg/>

(Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi²). I jednotlivé druhy a odrůdy rostlin se liší tzv. závislostí na mykorhize. Čím vyšší je závislost, tím větší prospěch z mykorhizní symbiózy může daná rostlina mít. Mezi rostliny relativně závislé na mykorhize patří řada zemědělských plodin včetně rajčete a póru. Na druhou stranu je tvorba mykorhiz velmi nebo zcela omezena u zástupců čeledí *Brassicaceae* a *Chenopodiaceae* (Gryndler et al., 2004).

AM houby prostřednictvím rozsáhlého mimokořenového mycelia zlepšují příjem řady hlavně v půdě málo pohyblivých živin (především v podmínkách s jejich omezenou dostupností) a vody. Navíc mohou zvyšovat odolnost hostitelských rostlin vůči abiotickým stresům (nedostatek závlahy, zasolení, zvýšená koncentrace těžkých kovů v půdě) i půdním patogenům a některým patogenům prýtu. Rostliny naopak poskytují mykorhizním houbám asimiláty (Gryndler et al., 2004). AM houby mohou od rostlin získat 2 – 20 % z jejich asimilátů (rev. Leake et al., 2004).

AM houby vylučují glykoprotein glomalin a zlepšují tak stabilitu půdy (rev. Rillig, 2004). Hrají také významnou roli v terestrickém cyklu uhlíku. Odhaduje se, že tvoří 20 – 30 % půdní mikrobiální biomasy (rev. Leake et al., 2004).

Oblast kolem kořenů, obohacená látkami z nich uvolňovanými, tzv. rhizosféra, se vyznačuje vyšším množstvím organismů v porovnání s okolní půdou (Hiltner, 1904). Mykorhizní houby kolonizující kořeny rostlin mění druhové složení mikroorganismů v rhizosféře a navíc prostřednictvím extraradikálního mycelia ovlivňují rozsáhlejší prostor – mykorhizosféru (Rambelli, 1973). Podle jiných autorů mykorhizosféra zahrnuje pouze oblast, která je pod vlivem kořenů rostlin a zároveň hyf mykorhizních hub (Linderman, 1988). Okolí mimokořenového mycelia je v tomto konceptu označováno jako mykosféra. V této práci používám termín mykorhizosféry ve smyslu 1. zmíněné definice mykorhizosféry, protože se v literatuře vyskytuje častěji.

4.2 Produkce rajčete a póru a jejich výživové vlastnosti

Rajče jedlé (*S. lycopersicum*) z čeledi *Solanaceae* se řadí mezi nejvýznamnější druhy zeleniny. Plody rajčete se konzumují v syrovém stavu nebo jako součást dalších produktů a jsou bohaté na antioxidanty. Obsahují karotenoidy (lykopen a β -karoten), fenolické látky a vitamin C a E. Konzumace rajčat snižuje riziko rakoviny a kardiovaskulárních chorob (rev. Borguini a Torres, 2009).

² <http://invam.caf.wvu.edu/>

V roce 2009 se celosvětově vyprodukovalo téměř 153 mil. tun plodů rajčat na ploše více než 4 mil. ha. Nejvíce se na produkci podílely Čína, USA, Indie, Egypt a Turecko, v Evropě pak Itálie, Španělsko, Ukrajina, Portugalsko a Řecko. V České republice se sklídilo téměř 29 500 t rajčat na více než 1 200 ha půdy (FAOSTAT, 2011). Roční spotřeba (údaj z r. 2009) plodů rajčete na osobu v ČR je 11 kg (Buchtová, 2010).

Pór zahradní (*A. porrum*) patří do čeledi *Alliaceae*. Konzumují se vybělené spodní části listů. Pór obsahuje vitamin C a B₁, minerální látky (železo, hořčík, vápník) a silice (Moravec, 1999). Hraje roli při prevenci rakoviny žaludku (Zhou et al., 2011).

V České republice se v roce 2005 vyprodukovalo 1 650 t póru na ploše 100 ha. Množství póru u nás pěstovaného klesá, například v roce 2000 se ho sklídilo 7 500 t. Z evropských zemí se nejvíce póru vyprodukuje ve Francii, Nizozemí, Velké Británii a Španělsku (Moravec, 1999).

4.3 Vliv mykorhizních hub na rostliny

4.3.1 Zlepšení příjmu živin

Mykorhizní houby zlepšují příjem řady hlavně v půdě méně pohyblivých živin – fosforu, dusíku, draslíku, síry, vápníku a zinku (rev. Vosátka a Albrechtová, 2008). Ke zvýšení příjmu u mykorhizních rostlin dochází díky rozsáhlému mimokořenovému myceliu, které čerpá živiny i z míst, kam kořenový systém rostlin nedosáhne. Mykorhizní houby navíc mohou účinněji získávat živiny v přítomnosti dalších půdních organizmů (Leigh et al., 2009), měnit složení exudátů vylučovaných kořeny rostlin, a tím ovlivňovat chemismus rhizosféry (rev. Vosátka a Albrechtová, 2008).

4.3.1.1 Příjem fosforu mykorhizními rostlinami

Většina studií zabývající se vlivem mykorhizy na příjem minerálních živin se soustředí na fosfor. Koncentrace fosforu dostupného pro rostliny je v půdě velmi nízká (1 – 10 $\mu\text{mol/l}$) a navíc se vyznačuje i omezenou pohyblivostí, kolem rostlin se tak tvoří zóny, kde je dostupný fosfor vyčerpán (Barber et al., 1963; Chen et al., 2008). Přínos mykorhizních hub spočívá v překlenutí těchto zón bez dostupného fosforu a možnosti získávat ho z mnohem většího objemu půdy.

Podíl mykorhizních hub na příjmu fosforu rostlinami rajčete pozoroval například Smith et al. (2004). Pro správné fungování mykorhizní symbiózy je potřebná nízká koncentrace fosforu v půdě. Pro ilustraci uvádím experiment autorů Nagy et al. (2009), ve kterém po přidání fosforu do půdy došlo ke snížení množství fosforu (³³P) transportovaného mykorhizní houbou *Glomus intraradices* N. C. Schenck & G. S. Sm.

do rostliny rajčete, omezení mykorhizní symbiomy bylo patrné i na poklesu kolonizace kořenů AM houbou i procenta délky kořenů, které obsahovaly arbuskuly a vezikuly.

4.3.1.2 Příjem dusíku mykorhizními rostlinami

Mykorhizní symbióza se může uplatnit i při zlepšení zásobování rostlin dusíkem (N), nejen díky zvýšení příjmu omezeně pohyblivého amonného iontu, ale i díky lepší schopnosti konkurovat v příjmu živin dalším půdním mikroorganismům a možnosti přijímat dusík v organické formě. Protože mykorhizní rostliny nejsou závislé pouze na dodávce dusíku mykorhizními houbami, první část této kapitoly stručně pojednává o příjmu dusíku přímo kořeny rostlin. Druhá část popisuje, jakým způsobem AM houby zlepšují jeho příjem.

4.3.1.2.1 Příjem dusíku kořeny rostlin

Rostliny přijímají N hlavně jako NO_3^- a NH_4^+ , v malé míře mohou získávat i organický dusík (rev. Jones et al., 2005). Příjem je zprostředkován vysokoafinitním (HATS) a nízkoafinitním (LATS) transportním systémem, který se nachází v membránách kořenových buněk. HATS funguje při nízké koncentraci N v půdě, LATS je naopak zodpovědný za příjem N při jeho vysoké vnější koncentraci (rev. Glass, 2003).

Dusičnanový anion vstupuje do buněk rhizodermis a primární kůry spolu s H^+ . HATS pro NO_3^- se rozlišuje na konstitutivní (cHATS), který je exprimován i při nedostupnosti NO_3^- v půdě, a inducibilní (iHATS), jehož fungování je silně indukováno přítomností NO_3^- a po určité době down-regulováno produkty asimilace N (rev. Forde, 2000). Doposud byly izolovány geny pro dvě skupiny transportérů N: NRT1 a NRT2. NRT1 kódují převážně LATS. Genová rodina NRT2 zahrnuje cHATS a iHATS (rev. Glass et al., 2001). U rostlin rajčete je příjem NO_3^- zajištěn HATS, který je kódován geny *LeNRT2;1*, *LeNRT2;2* a *LeNRT2;3*. Transportér *LeNRT2;1* se účastní hlavně příjmu N v kořenových vláskách, *LeNRT2;3* se vyskytuje v rhizodermálních buňkách. (Ono et al., 2000; Hildebrandt et al., 2002). Dále se na příjmu NO_3^- u rajčete podílí transportéry *LeNRT1;1* a *LeNRT1;2*, které jsou pravděpodobně součástí LATS. Transkripty genu *LeNRT1;2* byly detekovány v kořenových vláskách v místech, kde byl dostupný NO_3^- , naopak *LeNRT1;1* se exprimuje konstitutivně v kořenových vláskách i v dalších částech kořene (Lauter et al., 1996).

Amonný ion je do kořenů rostlin přijímán prostřednictvím HATS a LATS (rev. Glass, 2003). Transportéry systému HATS jsou kódovány genovou rodinou AMT1 (rev. Howitt a Udvardi, 2000) a jejich množství stoupá při nedostatku N v kořenových buňkách

a naopak při nadbytku N klesá (rev. Glass, 2003). V kořenových vláskách rajčete byly identifikovány geny *LeAMT1;1* a *LeAMT1;2* (Lauter et al., 1996; von Wiren et al., 2000). Exprese *LeAMT1;1* je indukována nedostatkem N při nízkých koncentracích glutaminu, exprese *LeAMT1;2* po dodání NH_4^+ nebo NO_3^- (von Wiren et al., 2000). Produkty genů z rodiny AMT2 možná tvoří LATS (rev. Glass et al., 2001). Příjem NH_4^+ pomocí LATS není pravděpodobně regulován množstvím N v rostlině a to možná přispívá k nadměrnému hromadění NH_4^+ v rostlinách, které rostou na půdách s vyšším obsahem NH_4^+ , a následnému toxickému efektu (rev. Glass, 2003). NH_4^+ citlivé rostliny (ječmen, rajče) se snaží omezit hromadění NH_4^+ jeho zpětným transportem z kořenů, tento proces probíhá proti gradientu a je proto energeticky náročný. Rostliny tolerantní k NH_4^+ (rýže) omezují vstup NH_4^+ do kořenů při jeho vysoké vnější koncentraci relativní depolarizací membrány (Britto et al., 2001). NH_4^+ je v půdě mnohem méně pohyblivý než NO_3^- , takže kolem kořenů může dojít k jeho vyčerpání. Pro jeho příjem je u nemykorhizních rostlin důležitá velikost a hustota kořenového systému (rev. Jackson et al., 2008).

Rostliny zřejmě mohou přijímat v omezené míře i dusík v organické formě. V kořenech rostlin byla identifikována řada transportérů pro aminokyseliny (rev. Fischer et al., 1998), není ale jasné, zda jsou rostliny při příjmu organického N schopné konkurovat půdním mikroorganizmům (rev. Jones et al., 2005). Možná tyto transportéry využívají pro znovuzískání aminokyselin obsažených v kořenových exudátech spíše než pro příjem aminokyselin uvolněných z odumřelé organické hmoty (rev. Jones et al., 2005).

4.3.1.2.2 Příjem dusíku zprostředkovaný mykorhizními houbami

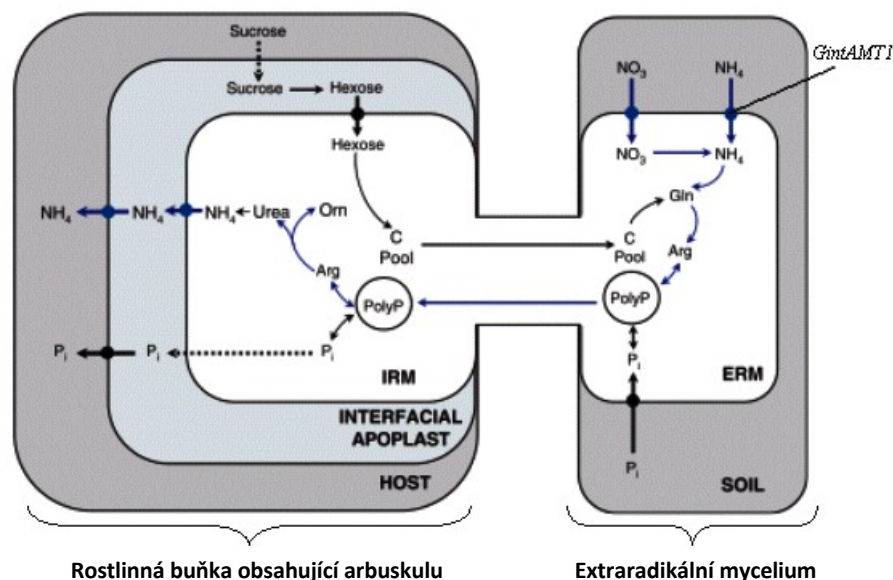
Mykorhizní houby především v půdách chudých na dusík zlepšují jeho příjem hostitelskými rostlinami (Mader et al., 2000). Příjem a přenos N AM houbami do kořenů rostlin je studován hlavně pomocí značení stabilním izotopem ^{15}N .

AM houby přijímají N v anorganické (NO_3^- a NH_4^+) i organické formě (např. glycin, kyselina glutamová, arginin; (Hawkins et al., 2000; Jin et al., 2005).

4.3.1.2.2.1 Příjem a přenos anorganického dusíku mykorhizními houbami

Anorganický dusík transportovaný do rostlin je AM houbami přednostně přijímán ve formě NH_4^+ možná pro jeho energeticky méně náročnou asimilaci (Johansen et al., 1992; Hawkins et al., 2000). Experiment autorů Tanaka a Yano (2005) ukázal, že rostliny (*Z. mays*) získaly 10x více ^{15}N pocházejícího z NH_4^+ než z NO_3^- , i když izolované intraradikální hyfy obsahovaly ^{15}N zabudovaný v buněčných stěnách při dodávání $^{15}\text{NO}_3^-$.

a $^{14}\text{NH}_4^+$, malé množství N z NO_3^- v rostlině je tedy zřejmě způsobeno omezenou kapacitou pro jeho přenos z intraradikálních hyf do hostitelské rostliny. Doposud byl popsán jeden vysokoafinitní transportér pro příjem NH_4^+ AM houbou. Je kódovaný genem *GintAMT1*, nachází se v plazmatické membráně mimokořenového mycelia AM houby *G. intraradices* a jeho exprese se zřejmě reguluje množstvím N v houbě (Lopez-Pedrosa et al., 2006). Vzhledem k poklesu transkripce při vyšších koncentracích NH_4^+ se předpokládá existence i LATS (Lopez-Pedrosa et al., 2006). Transportéry pro příjem NO_3^- AM houbou zatím nebyly identifikovány. Protože při dodání NO_3^- extraradikálnímu myceliu *G. mosseae* dochází ke zvyšování pH, je zřejmě jeho příjem spjat se symportem H^+ (Bago et al., 1996). NO_3^- se poté pravděpodobně redukuje na NH_4^+ , který je spolu s přijímaným NH_4^+ zabudován do glutaminu a dále přeměněn na glutamát, asparagin a nakonec na arginin (obr. 3). Arginin je pravděpodobně transportní formou, tvoří až 90 % volných aminokyselin vzniklých z přijatého dusíku (Jin et al., 2005). Vzhledem k tomu, že mimokořenové mycelium zasahuje do vzdálenosti několik cm od kořene, prostá difúze cytoplasmou je pro transport do kořenového mycelia nedostatečná, proto je arginin zřejmě přenášén spolu s polyP ve vakuolách poháněných cytoplasmatickým prouděním (Bago et al., 2001). Arginin je v intraradikálním myceliu rozkládán a do kořenových buněk se dostává v anorganické formě (Govindarajulu et al., 2005; Jin et al., 2005), pomocí arginázy je patrně štěpen na močovinu a ornitin, močovina je dále rozkládána na NH_3 a CO_2 a ornitin se přes glutamát znova přeměňuje na arginin. N se pak ve formě NH_4^+ přenáší do kořenových buněk hostitelské rostliny (obr. 3; Bago et al., 2001). U ektomykorhizních symbióz byla nastíněna možnost využití aquaporinu při transportu NH_4^+ z mykorhizních hub do mezilehlého prostoru (Dietz et al., 2011), u AM hub zatím způsob tohoto transportu znám není. Zatím byl naznačen pouze následný přenos přes membránu rostliny. Například u rostlin sóji (*Glycine max* (L.) Merr. cv. Fukuyutaka) bylo popsáno celkem 16 genů pro NH_4^+ transportéry, z nich 5 bylo indukováno mykorhizou. Zřejmě nejvíce přepisovaný gen *GmAMT4.1* kódoval transportér, který se nacházel v periarbuskulárních membránách, a pravděpodobně se proto účastnil transportu NH_4^+ z interfaciálního matrix do kořenových buněk hostitelských rostlin (Kobae et al., 2010). N může být z mezilehlého prostoru přenášén do buněk kořene rajčete i ve formě NO_3^- pomocí transportéru LeNRT2;3. Tento transportér u nemykorhizních rostlin vyskytuje hlavně v membránách rhizodermálních buněk a podílí se na vykoafinitním příjmu N. U mykorhizních rostlin je exprimován ve vyšší míře a je lokalizován i v kortikálních buňkách, kde se nacházejí arbuskuly AM hub (Hildebrandt et al., 2002).



Obr. 3: Schéma naznačuje příjem a přenos anorganického dusíku do kořenové buňky hostitelské rostliny. N je přijímán ve formě NO_3^- nebo NH_4^+ . Zatím byl popsán transportér pro NH_4^+ kódovaný genem *GintAMT1*. NO_3^- je redukován na NH_4^+ , který je spolu s přijatým NH_4^+ zabudován do glutaminu. Glutamin je přeměněn na arginin a v této formě je zřejmě spolu s PolyP ve vakuolách přenášen do intraradikálního mycelia, kde je štěpen na močovinu a ornitin. Močovina se dále přeměňuje na NH_4^+ , který je přenášen do interfaciálního matrix. Přechod přes membránu do kořenové buňky zajišťují pravděpodobně rostlinné transportéry pro NH_4^+ . Upraveno z Jin et al. (2005).

4.3.1.2.2 Příjem dusíku mykorhizními houbami z organických zdrojů

Několik studií sledovalo vliv přítomnosti organické hmoty rozkládané půdními mikroorganismy na transport dusíku do hostitelských rostlin. AM houby vrůstají do organické hmoty a transportují z ní N do kořenů rostlin, ne vždy ale zvyšují jeho celkový obsah v rostlinách a jejich růst. Experiment autorů Hodge et al. (2001) ukázal, že AM houby (*Glomus hoi* S. M. Berch & Trappe izolát UY 110) v přítomnosti organické hmoty vykazují zvýšený růst hyf, ale na druhou stranu suchou hmotnost, ani koncentraci dusíku a jeho celkový obsah v hostitelských rostlinách (jitrocel *Plantago lanceolata* L.) nemění. Podobný pokus, ve kterém byl sledován transport N z organické hmoty mykorhizními houbami *G. hoi* UY 110 a *G. intraradices* izolát BB-E, odhalil, že *G. intraradices* je v přenosu N ještě účinnější, zvyšuje i jeho koncentraci v hostitelské rostlině (jedná se opět o jitrocel; Leigh et al., 2009). Mykorhizní houby *Glomus clarum* T. H. Nicolson & N. C. Schenck izolát DOAM235378 (symbióza s trávou *Psathyrostachys juncea* (Fisch.) Nevski) v experimentu autorů Atul-Nayyar et al. (2009) a *G. hoi* UY 110 (symbióza s jitrocelem) sledovaný autory Hodge a Fitter (2010) nejen zvýšily obsah N v rostlině, ale zlepšily i jejich růst. Mykorhizní houby využívají značnou část N z rozkládající se organické hmoty pro vlastní potřebu, je u nich stimulován růst hyf a míra kolonizace

kořenů hostitelských rostlin i sousedních neinokulovaných rostlin (Hodge a Fitter, 2010). Díky malému průměru hyf mohou AM houby efektivně prorůstat organický materiál a minimalizovat tak vzdálenost od vznikajících produktů dekompozice. Tímto způsobem jsou zřejmě schopné účinněji kompetovat o N s dalšími půdními mikroorganismy (Leigh et al., 2009). AM houby dokonce mohou zvyšovat dekompozici organické hmoty. To je možná založeno na podporování aktivity mikroorganismů v mykorhizosféře (Hodge et al., 2001; Atul-Nayyar et al., 2009). Dekompozice byla zvýšena i přidáním malého množství minerálního N do půdy na něj chudé (Tu et al., 2006). Navíc díky vysoké morfologické a fyziologické plasticitě jsou mykorhizní houby významnější než kořeny rostlin při vyhledávání těchto lokálních organických zdrojů v půdě (rev. Tibbett, 2000).

Ektomykorhizní a erikoidní houby dokážou rozkládat některé složitější organické sloučeniny na jednodušší (aminokyseliny) a ty pak přijímat. Přímé důkazy štěpení organických sloučenin AM houbami chybí (rev. Talbot a Treseder, 2010). AM houby ale pravděpodobně mohou přijímat N v organické formě, jak naznačuje několik studií. V in vitro experimentu autorů Hawkins et al. (2000) mykorhizní houby *G. mosseae* BEG107 a BEG108 a *G. intraradices* BEG110 přijímaly glycin a kyselinu glutamovou a N z těchto zdrojů transportovaly do Ri T-DNA transformovaných kořenů mrkve (*Daucus carota* L.) Podobně byla dokázána i schopnost houby *G. intraradices* přijímat arginin (Jin et al., 2005). Dále byla charakterizována sekvence kódující aminokyselinovou permeázu GmosAAP1 z *G. mosseae*. Její mRNA byla detekována v membráně extraradikálního mycelia ve zvýšené míře po přidání organického N. GmosAAP1 hraje roli při příjmu prolinu a zřejmě i leucinu, alaninu a tyrozinu z půdy (Cappellazzo et al., 2008). Příjem organického N byl sledován i pomocí značení tzv. kvantovými body (quantum dots), jedná se o polovodiče velké řádově nanometry, které fluoreskují v různých barvách a jsou odolné vůči chemické i metabolické degradaci. Výhodou této metody je možnost sledovat příjem organického N i ve skleníkových a polních podmínkách. Kvantovými body autoři Whiteside et al. (2009) označili glycin a chitosan a podle fluorescence hyf vyvodili, že mykorhizní houby (směs různých druhů) jsou schopné organický N v těchto formách přijímat, dokonce mohli přijímané sloučeniny v hyfách přesněji lokalizovat: glycin se nacházel ve vakuolách tubulárního tvaru a chitosan zůstal v cytoplasmě. Tato práce je prvním přímým důkazem příjmu organického N v polních podmínkách. Na druhou stranu experimenty sledující příjem N z organické hmoty duálně značené izotopy ^{13}C a ^{15}N za přítomnosti dalších půdních mikroorganismů naznačují, že N je z těchto zdrojů přijímán převážně v anorganické formě. Například ve studii autorů Hodge a Fitter (2010)

mimokořenové mycelium AM houby *G. hoi* UY 110 vykazuje obohacení pouze stabilním izotopem ^{15}N .

Jednotlivé izoláty mají různou schopnost organický N přijímat. Experiment provedený autory Hawkins et al. (2000) ukázal přibližně dvakrát větší rychlost příjmu aminokyselin u *G. mosseae* BEG108 izolovaného z pole ošetřovaného organickým způsobem v porovnání *G. mosseae* BEG107, který pocházel z konvenčně obhospodařovaného pole. Množství přijatého N z organických zdrojů také závisí na jejich poměru uhlíku a dusíku (C/N). Pokud je tento poměr nižší, mineralizace organického materiálu a následný přenos N do rostliny stoupá (Hodge et al., 2000; Leigh et al., 2009).

Řada studií ukazuje, že AM houby dokážou přijímat N v organické formě. Mechanismus jeho transportu do rostliny ale není znám. Experiment autorů Weigelt et al. (2003) sleduje příjem duálně značeného glycinu (^{15}N a ^{13}C) různými druhy trav. Studie ukázala, že v půdě chudé na živiny na rozdíl od hnojené zřejmě dochází k příjmu organického N rostlinami. Autoři nastínili možnost, že by tento příjem mohl být zprostředkovaný mykorhizními houbami. V in vitro experimentu s duálně značeným argininem ale k jeho přenosu až do Ri T-DNA transformovaných kořenů mrkve nedošlo, N byl do rostliny přenášen v anorganické formě (Jin et al., 2005).

4.3.1.2.2.3 Vliv hnojení dusíkem na mykorhizní symbiózu

Vliv hnojení dusíkatými látkami na mykorhizní symbiózu není tak jednoznačný jako je tomu v případě přidávání fosforu. Treseder (2004) porovnal výsledky 31 studií, které sledovaly vliv hnojení N na polích, na loukách nebo v lesích na především míru kolonizace kořenů rostlin AM i ektomykorhizními houbami, a zjistil, že při dodání N dochází k omezení mykorhizy v průměru o 15 %, ve 23 % studií mělo přidání N pozitivní vliv na mykorhizní kolonizaci. Odlišnost odpovědi AM symbiózy na dodání N je zřejmě způsobena mimo jiné rozdílnými počátečními koncentracemi N v půdě a množstvím dodaného N. Například přidáním N do půdy na něj chudé došlo k nárůstu biomasy mykorhizních hub (Treseder a Allen, 2002). I experiment, při kterém byl sledován vliv dodaného minerálního N do půdy s jeho nedostatkem na suchou hmotnost rostlin (oves hluchý *Avena fatua* L.) a kolonizaci kořenů směsí mykorhizních hub, ukázal signifikantní nárůst ve sledovaných parametrech (Tu et al., 2006). Při dodávání vyššího množství N může dojít k omezení jeho přenosu do mykorhizních rostlin. Například mykorhizní rostliny rajčete vykazovaly nižší suchou hmotnost a množství přijatého N prostřednictvím AM houby *G. mosseae* BEG12 v podmínkách s vyšším obsahem N v půdě a naopak při přidávání méně N (Mader et al., 2000).

4.3.1.2.3 Využití ^{15}N (a ^{13}C) při studiu příjmu dusíku

Dusík má dva stabilní izotopy, ^{15}N a ^{14}N . Izotop ^{14}N převládá, atmosférický N_2 obsahuje přibližně 99,6337 % ^{14}N a pouze 0,3663 % ^{15}N .

Zastoupení ^{15}N může být vyjádřeno jako přirozený výskyt (natural abundance; $\delta^{15}\text{N}$; ‰), to je zjednodušeně poměr vzácnějšího izotopu a běžného izotopu vztažený na mezinárodní standard, kterým je atmosférický dusík:

$$\delta^{15}\text{N} = (R_{\text{vzorku}}/R_{\text{standardu}} - 1) \cdot 1000, \quad (1)$$

kde $R = ^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, pro dusík $R_{\text{standardu}} = 0,0036765$, nebo při cíleném obohacování jako poměr vzácnějšího izotopu a všech izotopů – atomová procenta ($\text{APC } ^{15}\text{N}$; atom %):

$$\text{APC } ^{15}\text{N} = X^{15\text{N}} / (X^{15\text{N}} + X^{14\text{N}}) = (R_{\text{vzorku}} / (R_{\text{vzorku}} + 1)) \cdot 100, \quad (2)$$

kde $X^{15\text{N}}$ a $X^{14\text{N}}$ je počet těžkých a lehkých izotopů ve vzorku a $R_{\text{vzorku}} = (\delta^{15}\text{N} / 1000 + 1) \cdot R_{\text{standardu}}$. Pokud je obohacení vzorku vyšší než 0,5 atom% obvykle se používá rovnice 2 (rev. Dawson et al., 2002).

U řady biologických, biogeochemických a fyziologických procesů dochází k diskriminaci ^{15}N díky jeho vyšší relativní atomové hmotnosti, což vede k rozdílnému zastoupení jednotlivých izotopů v jednotlivých částech ekosystémů, to může být využito v experimentech sledujících příjem N rostlinami. Odlišné potenciální zdroje N musí mít dostatečně rozdílné škály přirozeného výskytu ^{15}N , dále je nutné, aby nedocházelo k signifikantní frakcionaci (změny v poměru těžkého a lehkého izotopu mezi zdrojem a produktem) a míchání jednotlivých zdrojů při přenosu N do rostliny (rev. Dawson et al., 2002; rev. He et al., 2009).

Zatím se nezdá, že by při pohybu ^{14}N nebo ^{15}N přes membránu při příjmu N docházelo k frakcionaci. Rozdíly mezi přirozeným výskytem ^{15}N u zdroje a rostliny jsou obecně způsobeny při asimilaci N, kdy při některých enzymatických reakcích dochází k diskriminaci izotopu ^{15}N . Rozdíly $\delta^{15}\text{N}$ v rámci rostliny se mohou pohybovat mezi 3 – 7 ‰, rozdíly mezi rostlinou a mykorhizní houbou mohou dosahovat i 8 ‰ (rev. Evans, 2001; rev. Dawson et al., 2002).

Druhá možnost využití stabilního izotopu ^{15}N je obohacování sledovaných látek tímto izotopem. Vzhledem k značnému rozdílu obsahu ^{15}N mezi obohacenou látkou a

pozadím dochází u této metody k omezení problémů s interpretací vlivem frakcionace (rev. Dawson et al., 2002; rev. He et al., 2009).

Při studiu příjmu N mykorhizními houbami a jeho následného přenosu do kořenů rostlin se uplatňuje značení izotopem ^{15}N . Do zkoumaného systému může být ^{15}N přidáván ve formě obohaceného NH_4^+ nebo NO_3^- (např. Tanaka a Yano, 2005), jako obohacené aminokyseliny (např. Hawkins et al., 2000) nebo i organické materiály – biomasa rostlin, která se připravuje dodáváním ^{15}N při jejím pěstování (např. Leigh et al., 2009). V experimentech sledujících příjem N v organické formě v nesterilních podmínkách bývá často zdroj N značen duálně – stabilním izotopem ^{15}N a ^{13}C (Hodge et al., 2001; Weigelt et al., 2003). V případě využití organické hmoty jako zdroje se značení izotopem ^{13}C provádí pěstováním v atmosféře obohacené $^{13}\text{CO}_2$ (Leigh et al., 2009). Teoreticky by mohl být sledován transport organického N i na základě rozdílného přirozeného výskytu ^{13}C u rostlin s C3 a C4 metabolismem. Enzym RUBISCO (ribulosa-1,5-bisfosfát-karboxyláza/oxygenáza) při zabudovávání CO_2 do organických sloučenin preferuje lehčí izotop ^{12}C , $\delta^{13}\text{C}$ v C3 rostlinách se pohybuje mezi -22 a -35 ‰. U C4 rostlin dochází nejprve k fixaci CO_2 enzymem PEPC (fosfoenolpyruvát-karboxyláza), který ^{13}C nediskriminuje, takže výsledná $\delta^{13}\text{C}$ je vyšší: -11 až -17 ‰ (rev. Tiunov, 2007). Přirozeného rozdílu v obohacení C3 a C4 rostlin izotopem ^{13}C využil např. Watkins et al. (1996), který ve své práci sledoval přenos uhlíku z rostliny jitrocele *P. lanceolata* (C3) do poloparazitické rostliny *Cynodon dactylon* (L.) Pers. (C4).

4.3.2 Zvýšení odolnosti vůči abiotickým a biotickým stresům

Mykorhizní houby mohou kromě zlepšování příjmu živin také pozitivně ovlivňovat odolnost rostlin vůči abiotickým i biotickým stresům, a snižovat tak výnosové ztráty i používání pesticidů v zemědělství.

Působení různých abiotických stresorů na zemědělské plodiny je problémem mnoha částí světa. Inokulace rostlin rajčete AM houbami může omezit škodlivý vliv nedostatku živin (Cavagnaro et al., 2006) i závlahy (Subramanian et al., 2006), zasolení půdy (Al-Karaki, 2000), nízkých teplot (Latef a He, 2011) nebo zvýšené koncentrace těžkých kovů v půdě (Liu et al., 2005). AM houby zvyšují odolnost rostlin nejen díky zlepšení příjmu živin (Al-Karaki, 2000; Subramanian et al., 2006), ale například i díky zvýšení syntézy enzymů pro odbourávání reaktivních forem kyslíku: superoxiddismutázy,

³ Přirozený výskyt ^{13}C ($\delta^{13}\text{C}$) vychází ze stejné rovnice jako $\delta^{15}\text{N}$: $\delta^{13}\text{C} = (\text{R}_{\text{vzorku}}/\text{R}_{\text{standardu}} - 1) \cdot 1000$, kde $\text{R} = ^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$; standard pro uhlík je třetihorní vápenec belemnitého původu formace PD: $\text{R}_{\text{standardu}} = 0,011237$.

askorbátperoxidázy, katalázy a peroxidázy (ZhongQun et al., 2007; Latef a He, 2011) nebo omezení příjmu těžkých kovů i sodíku (Al-Karaki, 2000; Liu et al., 2005).

AM houby redukují projevy napadení rostlin různými půdními patogeny. Mykorhizní rostliny rajčete vykazovaly zvýšenou odolnost vůči houbovému patogenu *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan (Cordier et al., 1998), *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hansen (Ren et al., 2010), *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* Jarvis & Shoemaker (Utkhede, 2006) a *Verticillium dahliae* Kleb. (Karagiannidis et al., 2002). AM houby mohou omezit počet patogenů v rhizosféře (Ren et al., 2010), zlepšit zásobování živinami napadených rostlin (Karagiannidis et al., 2002) nebo aktivovat obranné mechanismy rostlin (Cordier et al., 1998). Například u mykorhizních rostlin rajčete (cv. Earlymech; symbióza s *G. mosseae* BEG12) došlo při napadení patogenem *P. nicotianae* k modifikaci rostlinných buněčných stěn: v mykorhizních částech kořene se ukládala kalóza, v nemykorhizních částech byly obohaceny o neesterifikované pektiny a PR-1a proteiny (Cordier et al., 1998). Inokulace rostlin AM houbami také omezila tvorbu hálek i počet vajíček a larev při napadení hálkotvornými háďátky (*Meloidogyne*) (Siddiqui a Mahmood, 1998) nebo projevy onemocnění některých patogenů prýtu (Fritz et al., 2006). Při vhodném zkombinování mykorhizních hub a dalších půdních mikroorganismů je pozitivní efekt na odolnost rostlin vůči biotickým stresům zesílen (Siddiqui a Mahmood, 1998; Akkopru a Demir, 2005).

4.3.3 Zvýšení výnosů u rajčete a póru

Pod vlivem mykorhizní symbiózy často dochází ke zvýšení biomasy mykorhizních rostlin. Pozitivní vliv ošetření rostlin rajčete AM houbami na jejich růst byl pozorován v řadě studií (Edathil et al., 1996; Bryla a Koide, 1998; Kim et al., 1998; Karagiannidis et al., 2002). *G. mosseae* například zvýšila suchou hmotnost rostlin rajčete (cv. Larly pack) o více než 100 % v porovnání s nemykorhizními rostlinami (Karagiannidis et al., 2002), podobně tomu bylo i při symbióze rostlin rajčete 76R s *G. intraradices* BEG87 nebo *G. mosseae* (Burleigh et al., 2002). Na druhou stranu AM houby mohou v některých případech růst rostlin rajčete neměnit nebo dokonce omezovat. V experimentu autorů Smith et al. (2004) redukovaly mykorhizní houby (*Gigaspora rosea* BEG9 T. H. Nicolson & N. C. Schenck, *Glomus caledonium* BEG20 (T. H. Nicolson & Gerd.) Trappe & Gerd nebo *G. intraradices* BEG87) suchou hmotnost rajčat (cv. Riogrande 76R), i když zajišťovaly třeba i značnou část příjmu fosforu. Různé mykorhizní houby nebo jejich kombinace působí na růst rostlin při stejných vnějších podmínkách odlišně. Například

suchá hmotnost rostliny rajčete (cv. Co. 1) byla nejvyšší při inokulaci houbou *Glomus fasciculatum* (Thaxt.) Gerd. & Trappe nebo *Glomus geosporum* (T. H. Nicolson & Gerd.) C. Walker, zatímco při inokulaci *Glomus aggregatum* N. C. Schenck & G. S. Sm. nebo *Glomus sinuosum* (Gerd. & B. K. Bakshi) R. T. Almeida & N. C. Schenck byl pozitivní vliv na růst rostlin nižší. Pozoruhodný byl negativní efekt na růst rostlin při současném ošetření mykorhizními houbami *G. aggregatum* a *G. fasciculatum*. Škodlivý vliv této duální inokulace byl vyrušen, pokud inokulum obsahovalo i další AM houby (Edathil et al., 1996). Podobně i růst rajčete (cv. 76R) byl pozitivně ovlivněn AM houbami *G. mosseae* (neregistrovaný izolát) a *Glomus versiforme* BEG47 (P. Karst.) S. M. Berch, neovlivněn *G. intraradices* BEG87, *Glomus claroideum* BEG14 N. C. Schenck & G. S. Sm. a *Scutellospora calospora* BEG43 (T. H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & F. E. Sanders a redukován při ošetření AM houbami *G. caledonium* BEG15 a *Gi. rosea* BEG9 (Burleigh et al., 2002). Studie autorů Bryla a Koide (1998) ukázala, že různé odrůdy rajčat reagují na mykorhizu rozdílně. Odrůda LA1709 má signifikantně zvýšený růst při kolonizaci AM houbou *Glomus etunicatum* W. N. Becker & Gerd., zatímco mykorhizní symbióza měla pouze malý vliv na odrůdu large cherry, která je, vzhledem ke schopnosti získávat fosfor z půdy s vysokou efektivitou, na mykorhize méně závislá.

U rostlin rajčete (cv. VF36 a VFNT Cherry), které byly kultivovány v podmínkách s nízkou hladinou fosforu v půdě a kolonizovány houbou *G. etunicatum*, se zvýšilo celkové množství květů a hmotnost vytvořených plodů. Mykorhizní rostliny také dříve kvetly (Poulton et al., 2002). AM houby navíc zvyšovaly kvalitu i kvantitu pylových zrn rajčat (Poulton et al., 2001). Podobných výsledků bylo docíleno i dodáváním fosforu nemykorhizním rostlinám. To indikuje, že pozitivní vliv AM hub na sledované parametry může být dosažen zlepšeným příjmem fosforu mykorhizními rostlinami (Poulton et al., 2001; Poulton et al., 2002). Hmotnost plodů a květů i délka reprodukční fáze byla zvýšena také v případě kolonizace na mykorhize různých závislých odrůd rajčete (LA1709 a large cherry) AM houbou *G. etunicatum* (Bryla a Koide, 1998).

AM houby mohou zvyšovat i výnosy pórů (Dickson et al., 1999; Milleret et al., 2009). Existují ale i studie, kde k ovlivnění suché hmotnosti nedochází (Tuffen et al., 2002). Konečný efekt mykorhizních hub na růst pórů závisí na genotypech AM hub a rostlin, ale i na vnějších podmínkách a době trvání experimentu. Například v experimentu autorů Dickson et al. (1999) přidání fosforu do půdy redukovalo kladné působení mykorhizních hub (*S. calospora* WUM12(2) a *Glomus* sp. WUM16) na růst rostlin pórů. Pozitivní růstová odpověď pórů na mykorhizní houby se objevila po 6 týdnech pěstování,

kdy suchá hmotnost mykorhizních rostlin v podmínkách s nízkou koncentrací fosforu v půdě byla více než o 100 % vyšší než u nemykorhizními jedinců. Při časnější sklizni růst rostlin ovlivněn nebyl (Dickson et al., 1999). Podobně rostliny póru (cv. Mercure) kolonizované mykorhizní houbou *G. intraradices* se po 5 týdnech pěstování nelišily od nemykorhizních variant, po 15 týdnech už byl nárůst čerstvé hmotnosti prýtu značný (přibližně čtyřikrát vyšší v porovnání s nemykorhizními rostlinami; Milleret et al., 2009).

4.3.4 Změny výživových vlastností výnosové části rostlin

Mykorhizní houby mohou v hostitelských rostlinách zvýšit množství prvků minerální výživy významných z hlediska výživy člověka. Plody mykorhizních rajčat (cv. 76R), které byly pěstovány organickým způsobem, obsahovaly ve srovnání s nemykorhizními (rmc mutant) více zinku (Cavagnaro et al., 2006). Ošetření rostlin rajčete (F1 Hybrid, GS -15) směsí mykorhizních hub současně s bakteriemi stimulujícími růst rostlin (PGPR) zvyšuje množství draslíku v plodech (Ordookhani et al., 2010). Rostliny póru (cv. Carlton) inokulované AM houbou *G. intraradices* BEG87 měly signifikantně vyšší hladiny zinku v nadzemních částech (Sorensen et al., 2008).

Výživové vlastnosti rostlin mohou být ovlivněny i změnami obsahu některých sekundárních metabolitů. Vitamín C a E, některé karotenoidy nebo flavonoidy a řada dalších látek obsažených v rostlinách se řadí mezi antioxidanty, látky, které odstraňují volné radikály v těle a hrají důležitou roli při prevenci rakoviny, kardiovaskulárních, neurodegenerativních a jiných onemocnění (rev. Kaur a Kapoor, 2001). Ošetření rostlin AM houbami může zvýšit obsah některých antioxidantů. Plody mykorhizních rajčat (cv. Saint Pierre), které byly dvakrát inokulovány směsí mykorhizních hub (při zakládání experimentu a při přesazování), obsahovaly signifikantně více karotenoidů (Regvar et al., 2003). Přítomnost AM hub spolu s bakteriemi stimulujícími růst rostlin (PGPR) zvýšila obsah lykopenu a antioxidační kapacitu plodů rajčat (Ordookhani et al., 2010). Zvýšení antioxidační kapacity a glykosidů kvercetinu (flavonoid) bylo pozorováno i u mykorhizních rostlin cibule (*Allium cepa* L. cv. Centurion; symbióza se směsí mykorhizních hub: *G. mosseae*, *G. intraradices*, *G. claroideum* a *Glomus microaggregatum* Koske, Gemma & P. D. Olexia; Perner et al., 2008). Mykorhizní symbióza by teoreticky mohla ovlivnit i antioxidační kapacitu póru.

4.4 Interakce mezi mykorhizními houbami a dalšími půdními organizmy a jejich vliv na rostliny

Mykorhizní houby interagují s řadou dalších půdních organizmů, například s bakteriemi, saprotrófními houbami nebo kroužkovci. Hlavní skupiny půdních organizmů mykorhizosféry jsou popsány níže. Některé interakce jsou škodlivé, jiné, zahrnující například bakterie stimulující růst rostlin (PGPR – plant growth promoting rhizobacteria) nebo bakterie fixující vzdušný dusík, podporují funkce mykorhizy a můžou tak mít příznivý vliv i na rostliny (Bagyaraj a Menge, 1978; Kim et al., 1998; De Jaeger et al., 2010; Kim et al., 2010). Mimokořenové hyfy mohou interagovat s půdními organizmy jednak nepřímo prostřednictvím změn například složení exudátů rostlin nebo architektury kořenového systému, jednak přímo jejich fyzickým nebo metabolickým působením (rev. Johansson et al., 2004).

Studii, které se zabývají interakcemi mezi AM a saprotrófními houbami nebo AM houbami, dalšími půdními organizmy a rostlinami rajčetem a pórem, je velmi omezené množství, proto se v této části věnuji interakcím AM hub s různými půdními organizmy a využívám poznatky získané i při studiu jiných rostlin.

4.4.1 Půdní bakterie

Půdní bakterie interagující s AM houbami můžeme rozdělit do několika skupin: 1) bakterie stimulující růst rostlin (PGPR – plant growth promoting rhizobacteria), 2) pomocné bakterie pro mykorhizu (MHB – mycorrhiza helper bacteria), 3) bakterie fixující vzdušný dusík, 4) škodlivé bakterie a 5) endosymbiotické bakterie AM hub (rev. Miransari, 2011). Hranice mezi jednotlivými skupinami nejsou pevně dané a mohou se prolínat. Mykorhizní rostliny mají odlišné druhové složení bakterií ve své rhizosféře v porovnání s nemykorhizními rostlinami (Marschner et al., 2001). Tyto změny jsou způsobeny přímo i nepřímo mykorhizními houbami: AM houby například zásobují bakterie uhlíkatými sloučeninami, které získávají od hostitelských rostlin, mění pH mykorhizosféry nebo vylučují různé inhibiční i stimulační látky. Nepřímo mohou AM houby působit na půdní bakterie ovlivňováním růstu rostlin, změnami složení kořenových exudátů nebo struktury půdy (rev. Johansson et al., 2004).

Skupina PGPR zahrnuje bakterie, které zvyšují růst rostlin prostřednictvím 1) produkce rostlinných hormonů, 2) zvyšování dostupnosti živin v půdě, 3) kontroly půdních patogenů nebo 4) zmírnění působení stresorů (rev. Miransari, 2011). PGPR mohou stimulovat růst mimokořenového mycelia AM hub, míru kolonizace kořenů rostlin

i množství spor (Vosatka a Gryndler, 1999; Gryndler et al., 2002; Kim et al., 2010). Pozitivní vliv AM hub na rostliny je v některých případech zesílen inokulací bakteriemi ze skupiny PGPR. Například ve studii autorů Kim et al. (2010) rostliny papriky (*Capsicum annuum* L.) inokulované bakterií *Methylobacterium oryzae* Madhaiyan et al. (izoláty CBMB20 a CBMB110) a zároveň mykorhizními houbami (*Acaulospora longula* Spain & N. C. Schenck, *G. clarum* a *G. intraradiaces*) vykazovaly oproti inokulaci jedním mikroorganizmem signifikantně vyšší suchou hmotnost a obsah chlorofylu v porovnání s kontrolními rostlinami. Rostliny s kombinovanou inokulací obsahovaly navíc vyšší množství řady makrobiogenních (dusík, fosfor, draslík, hořčík) i mikrobiogenních prvků (zinek, měď, železo). Pozitivní účinek na růst rostlin a především příjem fosforu můžeme pozorovat také při kombinaci mykorhizních hub a bakterií rozpouštějící fosfát (phosphate-solubilizing bacteria; Kim et al., 1998). Při kombinované inokulaci mykorhizními houbami a PGPR nemusí vždy docházet ke stimulaci růstu rostliny. V experimentu, který sledoval vliv AM houby *G. mosseae* BEG29 a různých půdních bakterií na jahodník (*Fragaria × ananassa* (Weston) Loisel et al.), některé kombinace AM hub a bakterií ovlivnily růst rostlin pozitivně, častěji ale bylo ovlivnění negativní nebo ke změně růstu nedošlo (Vestberg et al., 2004). Na druhou stranu inokulace sledovanými mikroorganismy nebo i jejich kombinacemi ve většině případů snižovala symptomy při napadení jahodníku půdním patogenem *Phytophthora cactorum* (Lebert & Cohn) J. Schröt. PGPR spolu s AM houbami mohou působit i na kvalitu plodin. Ukázala to studie autorů Ordookhani et al. (2010), ve které ošetření rostlin rajčete (F1 Hybrid, GS-15) směsí mykorhizních hub (*G. intaradices*, *G. mosseae* a *G. etunicatum*) a bakterií (*Pseudomonas putida* (Trevisan) Migula izolát 41, *Azotobacter chroococcum* Beijerinck izolát 5 a *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) Tarrand et al. izolát OF) zvýšilo obsah lykopenu, antioxidační aktivitu a obsah draslíku v plodech.

Pomocné bakterie pro mykorhizu (MHB) představují další skupinu a patří do ní řada bakterií včetně některých PGPR a dusík fixující bakterie *Rhizobium*. Pomocné bakterie pro mykorhizu například zvyšují kolonizaci kořenů hostitelských rostlin AM houbami, omezují vliv nepříznivých vnějších podmínek na mycelium mykorhizních hub nebo podporují klíčení spor a růst hyf (rev. Frey-Klett et al., 2007). Mezi pomocné bakterie patří například *Pseudomonas fluorescens* Migula 92rk, která zvyšuje kolonizaci kořenů rajčete AM houbou *G. mosseae* BEG12 (Gamalero et al., 2004).

Mykorhizní houby mohou interagovat s bakteriemi fixujícími vzdušný dusík a pozitivně tak působit na výnosy rostlin. Rostliny fazole (*Phaseolus vulgaris* L. cv. speed

wonder) inokulované mykorhizní houbou (*Glomus* sp.) a směsí hlízkových bakterií složenou z *Rhizobium leguminosarum* bv. *Phaseoli* Frank (Tha-301) a *Rhizobium tropici* Martinez-Romero et al. (RVS-169 a RVS 609) vykazovaly signifikantně vyšší čerstvou a suchou hmotnost i výnosy v porovnání s rostlinami inokulovanými pouze mykorhizní houbou nebo hlízkovou bakterií. Výnosy rostlin fazolu ošetřené pouze jedním mikroorganizmem se neodlišovaly od kontroly (Aryal et al., 2003). Synergický efekt na rostliny byl pozorován i v případě inokulace AM houbami a volně žijícími bakteriemi fixujícími dusík. Nárůst suché hmotnosti byl například pozorován u rostlin rajčete (cv. Rutgers), které byly inokulovány AM houbou *G. fasciculatum* a diazotrofní bakterií *A. chroococcum* (Bagyaraj a Menge, 1978). Při kombinaci mykorhizní houby a diazotrofní bakterie může docházet i k jejich vzájemnému pozitivnímu ovlivnění. Ve studii autorů Bagyaraj a Menge (1978) došlo k nárůstu populace bakterie *Azotobacter* v rhizosféře a počtu spor mykorhizních hub, zvýšena byla i kolonizace kořenů rajčete. Stejně vzájemné ovlivnění mikroorganismů bylo pozorováno i v případě hlízkových bakterií (Aryal et al., 2003).

Ne všechny interakce mezi půdními bakteriemi, AM houbami a rostlinami jsou prospěšné. V mykorhizosféře existuje řada bakterií, které mohou vylučovat škodlivé látky (včetně fytotoxinů), soutěžit s ostatními mikroorganismy o živiny nebo inhibovat růst AM hub (rev. Miransari, 2011). Některé bakterie mohou působit na rostliny škodlivě i jako PGPR v závislosti na vnějších podmínkách, genotypu a přítomnosti mykorhizní houby (Nehl et al., 1997).

V cytoplasmě některých AM hub se vyskytují endosymbiotické bakterie. Například přítomnost bakterie rodu *Burkholderia* ve sporách a klíčícím i symbiotickém myceliu AM houby *Gigaspora margarita* W. N. Becker & I. R. Hall odhalila studie autorů Bianciotto et al. (1996).

Jendou z hlavních složek půdních mikroorganismů jsou aktinomycety (aktinobakterie) patřící mezi gramnegativní bakterie. Aktinomycety mohou například uvolňovat fosfát z obtížněji rozpustných sloučenin nebo fixovat vzdušný dusík (Franco-Correa et al., 2010). Ve studii autorů Franco-Correa et al. (2010) bylo ukázáno, že některé aktinomycety (*Streptomyces* MCR9 a MCR26 a *Thermobifida* MCR24) podporují růst mycelia AM hub (*G. mosseae*) v nepřítomnosti kořenů rostlin a stimulují (MCR9 a MCR26) klíčení spor. Klíčení spor AM hub je zřejmě podporováno těkavými látkami (geosmin a 2-methylisoborneol) produkovanými aktinomycety (Carpenterboggis et al., 1995). Experiment sledující vliv aktinomycet rozkládajících chitin ukázal, že některé

mohou zvyšovat kolonizaci kořenů rostlin cibule (*A. cepa*), která byla inokulována mykorhizní houbou *G. mosseae*, a hustotu hyf v nesterilní půdě (Ames, 1989). Ošetření rostlin zároveň mykorhizními houbami a aktinomycetami může pozitivně ovlivňovat růst rostlin i obsah P v rostlině (Ames, 1989; Franco-Correa et al., 2010).

Řada studií zabývajících se interakcí mezi AM houbami a půdními bakteriemi poukazuje na jejich pozitivní vliv na výnosy pěstovaných plodin nebo zvyšování jejich odolnosti vůči patogenům (Vestberg et al., 2004; Kim et al., 2010). Tyto kombinované inokulace mohou být využívány v zemědělství, je ale nutné zvolit vhodné genotypy jednotlivých partnerů. Důležité jsou také vnější podmínky. V experimentu, který se zabýval vlivem duální inokulace rostlin fazolu mykorhizní houbou a hlízkovou bakterií, se ukázalo, že ke zvyšování výnosů docházelo v případech, kdy rostliny nebyly přihnojovány, nebo se použilo organické hnojivo. Při chemickém hnojení takových výsledků dosaženo nebylo (Aryal et al., 2003).

4.4.2 Houby

V půdě se vyskytuje kromě mykorhizních hub i řada dalších. Nejvíce pozornosti je věnováno interakcím mezi rostlinami, patogenními a mykorhizními houbami. Touto problematikou se zabývám v kapitole 1.3.2 Zvýšení odolnosti vůči abiotickým a biotickým stresům. V mykorhizosféře se nacházejí i další skupina mikroorganismů: saprotrófní houby.

Studie autorů Tiunov a Scheu (2005) ukázala, že přítomnost AM hub mění složení společenstva saprotrófních hub. Mykorhizní houba *G. mosseae* BEG12 potlačila výskyt saprotrófních hub *Trichoderma harzianum* Rifai a *Exophiala* sp., a naopak kladně působila na *Ramichloridium schulzeri* (Sacc.) de Hoog. Mykorhizní houby mohou mít vliv na klíčení konidií saprotrófních hub. V in vitro experimentu autorů Fillion et al. (1999) s mykorhizní houbou *G. intraradices* (DAOM181602) kolonizující transformované kořeny mrkve bylo klíčení *T. harzianum* (ATCC 52443) stimulováno a naopak u *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi* G. M. Armstr., J. K. Armstr. & R. H. Littrell redukováno. Předchozí dva experimenty ukazují, že stejný druh saprotrófní houby může být AM houbami ovlivněn pozitivně i negativně v závislosti na jednotlivých genotypech i vnějších podmínkách.

Saprotrófní houby mohou potlačovat klíčení spor AM hub a kolonizaci kořenů rostlin. Různé izoláty saprotrófní houby *Trichoderma pseudokoningii* Rifai (511, 2212, 741A, 741B a 453) inhibovaly klíčení spor *G. mosseae* BEG12 a *Gi. rosea* BEG9 a omezovaly kolonizaci kořenů sóji (cv. Nidera) mykorhizní houbou *Gi. rosea* (Martinez et

al., 2004). Tato práce také ukázala, že vliv saprotrfních hub na mykorhizní houby je různý v závislosti na jejich genotypch. Jeden ze sledovaných izolátů saprotrfí houby *T. pseudokoningii* (453) klíčení spor *Gi. rosea* neomezoval. Naopak ke snížení kolonizace kořenů AM houbou v případě ošetření *G. mosseae* v přítomnosti většiny izolátů *T. pseudokoningii* nedošlo (Martinez et al., 2004). V experimentu autorů McAllister et al. (1997), kde byl sledován vliv saprotrfních hub *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. a *Fusarium equiseti* (Corda) Sacc. na kolonizaci kořenů salátu (*Lactuca sativa* L. cv. Romana) a kukuřice (cv. Calderon) AM houbou *G. mosseae* (BEG12), byla míra kolonizace omezena v případě, kdy inokulace saprotrfí houbou byla provedena dva týdny před nebo souběžně s mykorhizní houbou. Pokud ale ošetření saprotrfí houbou proběhlo dva týdny po ošetření AM houbou, kolonizace nebyla ovlivněna. Autoři tak poukazují na možnost, že saprotrfí houba působí na mykorhizní houbu především před založením mykorhizy. V jiných případech saprotrfí houby mohou negativně ovlivňovat AM houby i po založení mykorhizy. I když sporulace a kolonizace kořenů bramboru (*Solanum tuberosum* L. cv. Bintje) mykorhizní houbou *Glomus* sp. izolát MUCL41833 nebyla ovlivněna v přítomnosti *T. harzianum* MUCL29707, tato saprotrfí houba parazitovala v mimokořenovém myceliu AM houby, a dokonce se šířila prostřednictvím kořenového mycelia až do kořenů bramboru. *T. harzianum* způsobovala degradaci protoplastu a snižovala životaschopnost extraradikálního i intraradikálního mycelia AM houby (De Jaeger et al., 2010). Mykoparazitismus *T. harzianum* může být potlačen, pokud je omezena kompetice o živiny s AM houbou přidáním organické hmoty. Toto ukázala studie autorů Green et al. (1999). *T. harzianum* izolát T3a přidána spolu s obilnými otruby do kompartmentu odděleného pro kořeny nepropustnou membránou od rostlin okurky (*Cucumis sativus* L. cv. Aminex; F1 hybrid), které interagovaly s mykorhizní houbou *G. intraradices* BEG87, sice omezovala kolonizaci kořenů, ale neovlivňovala biomasu žijících hyf.

V jiných případech může naopak saprotrfí houba pozitivně ovlivňovat kolonizaci rostlin AM houbami. Například *T. harzianum* GT3-2 zvýšila kolonizaci kořenů okurky (cv. Jibai) mykorhizní houbou *G. mosseae* (Chandanie et al., 2009). Podobně i některé saprotrfí houby rodu *Fusarium* (*F. oxysporum* Schltdl. izoláty 738 a 126 a *F. stilboides* Wollenw. izolát 2169) působily na kolonizaci kořenu sóji houbou *G. mosseae* ve sterilní i nesterilní půdě (Garcia-Romera et al., 1998). Nepatogenní izolát *F. oxysporum* Fo162 zvýšil také míru kolonizace kořenů rajčete (cv. Rheinlands) mykorhizní houbou *Glomus coronatum* Giovann. (Diedhiou et al., 2003).

Inokulace zároveň saprotrófními i mykorrhizními houbami může mít synergický i antagonistický efekt na růst rostlin. Například suchá hmotnost i výška rostlin rajčete (cv. Cal-j) byla signifikantně větší při ošetření mykorrhizní houbou *T. harzanium* P52 a směsi mykorrhizních hub (Mwangi et al., 2011). Přítomnost mykorrhizní houby *G. mosseae* a saprotrófní houby *T. harzanium* GT3-2 pozitivně ovlivnila také růst okurky (Chandanie et al., 2009). Zvýšení suché hmotnosti nadzemní části rostlin sóji došlo při inokulaci některými izoláty *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. a *F. oxysporum* společně s *G. mosseae* (Garcia-Romera et al., 1998). Naopak růst rostlin kukuřice a salátu byl omezen například při experimentu autorů McAllister et al. (1997), pokud byly rostliny ošetřeny saprotrófními houbami *A. alternata* a *F. equiseti* dříve než mykorrhizní houbou *G. mosseae*. Ne vždy jsou mykorrhizní rostliny ošetřené saprotrófní houbou ovlivněny. Růst rostlin rajčete nebyl změněn přítomností zároveň mykorrhizní houby *G. coronatum* a nepatogenního izolátu *F. oxysporum* Fo162 (Diedhiou et al., 2003).

Saprotrófní houby mohou zvyšovat odolnost mykorrhizních rostlin vůči patogenům. Přítomnost mykorrhizní houby *G. intraradices* a saprotrófní houby *T. harzanium* snižovala četnost *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, patogena rostlin rajčete (cv. Plant Tomato-3; Srivastava et al., 2010). Podobně i ošetření rostlin okurky zároveň houbami *G. mosseae* a *T. harzanium* GT3-2 nebo *Penicillium simplicissimum* (Oudem.) Thom GP17-2 omezilo projevy napadení rostlin patogenem *Rhizoctonia solani* J. G. Kühn (Chandanie et al., 2009). Ošetření rostlin zároveň mykorrhizními a saprotrófními houbami nemusí mít vždy synergický efekt. Například duální inokulace houbami *G. coronatum* a *F. oxysporum* neomezovala napadení rostlin rajčete hádátkem *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) průkazně více než ošetření pouze jedním mikroorganizmem (Diedhiou et al., 2003). Synergický efekt nebyl pozorován ani v případě inokulace rostlin rajčete (cv. Hildares) houbami *G. intraradices* BEG148 a *Trichoderma viride* Pers. při napadení hádátkem *Meloidogyne hapla* Chitwood (Masadeh et al., 2004). Podobně nebyl průkazně více potlačen rozsah napadení rajčete (cv. Hellfrucht) hádátkem *M. incognita* při ošetření zároveň *G. intraradices* izolát 510 a *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson izolát 251, pokud ale bylo ošetření houbou *P. lilacinus* provedeno dvakrát, byl pozorován synergický pozitivní vliv duální inokulace na napadené rostliny (Rumbos et al., 2006).

Některé saprotrófní houby jsou schopné podobně jako bakterie uvolňovat fosfát z obtížně rozpustných sloučenin. Například ve studii autora Omar (1998) byly vybrány dvě houby solubilizující fosforit, *Aspergillus niger* Tiegh. a *Penicillium citrinum* Thom, a následně byl sledován jejich vliv na pšenici (*Triticum aestivum* L.) kolonizovanou AM

houbou *Glomus constrictum* Trappe. Kombinace všech tří mikroorganismů spolu s přidáním fosforitu signifikantně zvýšila růst rostlin a obsah fosforu a tento efekt byl více patrný v hrnkových experimentech s nesterilní půdou a polních experimentech v porovnání s pokusy se sterilní půdou. *Aspergillus fumigatus* Fresen. je pravděpodobně schopný získávat fosfor z obtížně rozpustných fytátů. Přítomnost této saprotrófní houby spolu s mykorhizní houbou *G. mosseae* měla synergický pozitivní vliv na příjem fosforu a suchou hmotnost rostlin jetele (*Trifolium repens* L.; Tarafdar a Marschner, 1995).

Vliv duální inokulace AM hub a saprotrófních hub *Agrocybe*, *Gymnopilus* nebo *Thermomyces* na rostliny zatím nebyl dle mně dostupných informací studován. Saprotrófní houby produkují řadu enzymů, díky kterým jsou schopny štěpit organické látky nedostupné pro rostliny a AM houby. Například *T. lanuginosus* syntetizuje mimo jiné alkalické proteázy, lipázy, α -amylázy, glukoamylázy, manázy, invertázy a β -glykosidázy (rev. Maheshwari et al., 2000). Saprotrófní houby by tedy mohly za určitých podmínek mykorhizním rostlinám zpřístupňovat některé živiny. Je ale nutno zvolit vhodnou kombinaci genotypů rostliny a saprotrófní i mykorhizní houby a vložit dostatek živin. Pokud jsou rostliny pěstovány v podmínkách s omezenou dostupností živin, mohou spolu rostliny a saprotrófní houby kompetovat. To bylo ukázáno v experimentu autorů Moorhead et al. (1998), kteří sledovali rostliny (tráva *Bouteloua gracilis* (Willd. ex Kunth) Lag. ex Griffiths) kultivované spolu s malým množstvím rozkládající se organické hmoty ve skleníku v podmínkách s omezenou dostupností dusíku. Zjistili, že rostliny mohou mít negativní vliv na rozklad organické hmoty, pravděpodobně omezením dostupnosti dusíku pro saprotrófní mikroorganismy. Na druhou stranu nemýkorhizní rostliny v přítomnosti malého množství rozkládající se organické hmoty rostly signifikantně méně v porovnání s variantami pěstovanými v její nepřítomnosti. Mykorhizní kolonizace redukovala škodlivý efekt rozkládající se organické hmoty na růst rostlin

4.4.3 Půdní bezobratlí

AM houby mohou interagovat i s řadou dalších organismů. Hádátka (*Meloidogyne*) napadají kořeny rostlin a je o nich stručně pojednáváno v kapitole 1.3.2 Zvýšení odolnosti vůči abiotickým a biotickým stresům.

Kroužkovci mohou pozitivně ovlivňovat růst rostlin, synergický efekt při přítomnosti kroužkovců a AM hub většinou není pozorován. Například studie autorů Tuffen et al. (2002) sledovala vliv mykorhizní houby a žížaly (*Aporrectodea caliginosa* Sav.) na rostliny póru (cv. Musselburgh). Ukázalo se, že pouze žížaly zvýšily růst rostlin.

Kroužkovci (*Balanteodrilus pearsei* Pickford) v některých případech redukuje kolonizaci kořenů mykorrhizními houbami (Ortiz-Ceballos et al., 2007). To může být důsledkem mechanického narušování mycelia mykorrhizních hub (Lawrence et al., 2003).

Chvostokoci konzumují mimo jiné mycelium hub. V experimentu autorů Larsen a Jakobsen (1996) chvostokoci (*Folsomia candida* Willem) snižovali transport ^{32}P mykorrhizními houbami (*G. caledonium* izoláty RIS 42 a BEG15, *G. intraradices* 28 A a *Glomus invermaium* I. R. Hall WUM10) do rostliny z kompartmentu odděleného od kořenů rostlin a délku hyf AM hub v tomto kompartmentu. Zdá se, že chvostokoci preferují před AM houbami spíše saprotrófní houby. Klironomos et al. (1999) zjistili, že *F. candida* upřednostňovala saprotrófní houbu *A. alternata* a v její přítomnosti byla populace chvostokoka v následujících generacích početnější. Naopak, pokud musel chvostokok konzumovat méně přijatelné houby, bylo jeho množství redukováno. V přítomnosti pouze mykorrhizních hub (*Acaulospora spinosa* C. Walker & Trappe, *S. calospora* a *Gigaspora gigantea* (T. H. Nicolson & Gerd.) Gerd. & Trappe) dokonce chvostokoci F1 generace neprodukovali vajíčka. V přírodě proto pravděpodobně konzumace mykorrhizních hub chvostokoky není obvyklá.

4.4.4 Organická hmota jako zdroj živin, půdní mikroorganismy a rostliny

Přítomnost organické hmoty v půdě může mít vliv na AM houby, další půdní mikroorganismy i rostliny. V kapitole 1.3.1.2.2.2 Příjem dusíku mykorrhizními houbami z organických zdrojů už bylo nastíněno, že AM houby jsou schopné získávat z rozkládajících se organických materiálů dusík, který poté mohou transportovat do hostitelských rostlin, a díky prorůstání do těchto míst mohou lépe soutěžit s půdními mikroorganismy o živiny. Aristizabal et al. (2004) dokonce odhalili hyfy, vezikuly a struktury podobné arbuskulám v rozkládajících se listech některých tropických rostlin.

Dodání organické hmoty může zvýšit množství saprotrófních mikroorganismů i mykorrhizních hub v půdě (Albertsen et al., 2006). Přidáním organické hmoty dochází často ke stimulaci růstu hyf mykorrhizních hub. Například hustota hyf AM houby *G. hoi* byla vyšší, pokud jim bylo umožněno prorůst do rozkládajícího se rozemletého listí trav (Hodge et al., 2001). Podobně i organická hmota v podobě rozdrcených sušených rostlin tolice vojtěšky (*Medicago sativa* L.) v nesterilní půdě pozitivně ovlivnila růst hyf houby *G. intraradices* RH5 (Gryndler et al., 2009). Toto působení organické hmoty na AM houby je mimo jiné pravděpodobně způsobeno látkami, které jsou při dekompozici půdními mikroorganismy uvolňovány (Gryndler et al., 2009). Na druhou stranu množství mastných kyselin typických pro membrány AM hub (16:1ω5) a růst hyf houby *G.*

intraradices v písku v přítomnosti organické hmoty a půdního filtrátu, který obsahoval půdní mikroorganismy, nebyl ovlivněn, ale bez dodání organické hmoty došlo k redukci těchto mastných kyselin (Albertsen et al., 2006). Rozkládající se organická hmota může pozitivně ovlivňovat i míru kolonizace kořenů mykorhizních rostlin (Gryndler et al., 2009). Naopak v experimentu autorů Ravnskov et al. (2006) došlo k omezení kolonizace kořenů rajčete (cv. Aromata F1) mykorhizní houbou *G. intraradices* BEG87, pokud byly přidány obilné otruby, které zase na druhou stranu zvýšily hustotu populace saprotrófní houby *Clonostachys rosea* IK 726 (Link) Schroers, Samuels, Seifert & W. Gams (Ravnskov et al., 2006).

Organický materiál, který je rozkládaný saprotrófními mikroorganismy, představuje významný zdroj živin, proto kromě pozitivního vlivu na půdní mikroorganismy včetně AM hub, zvyšuje i růst mykorhizních rostlin. Přítomnost organické hmoty například zvětšila suchou hmotnost rostlin kukuřice (cv. Arobase) kolonizovaných houbou *G. claroideum* BEG23 (Gryndler et al., 2009) nebo rostlin jetele, které byly v symbióze s *G. hoi* UY 110 (Hodge a Fitter, 2010). V práci autorů Albertsen et al. (2006) byl sledován vliv organické hmoty, AM hub a půdních mikroorganismů na rostliny okurky (cv. Aminex). Suchá hmotnost nadzemní části rostlin byla zvýšena při jejich inokulaci AM houbou *G. intraradices* BEG87, přítomnost půdního filtrátu neměla na růst rostlin vliv. Analýza obsahu mastných kyselin ale ukázala, že i ve variantách neošetřených půdním filtrátem je značný obsah mikroorganismů, autoři se domnívají, že se jedná o mikroorganismy asociované s AM houbou. Organická hmota může mít i negativní vliv na suchou hmotnost, toto bylo ukázáno na rostlinách rajčete, ke kterým byly přidány otruby. Pokud byly rostliny ošetřeny mykorhizní (*G. intraradices* BEG87) a saprotrófní houbou (*C. rosea* IK 726) nebo oběma zároveň, pak růst rostlin nebyl omezen (Ravnskov et al., 2006).

4.5 Využití mykorhizní symbiózy v zemědělství

V předchozích kapitolách byla pozornost věnována pozitivnímu vlivu AM hub na příjem živin, odolnost vůči abiotickým i biotickým stresům, výnosy i výživové vlastnosti rostlin. Bylo nastíněno, že AM houby interagují s řadou dalších půdních mikroorganismů a tato vzájemná působení mohou při zvolení vhodných vnějších podmínek a genotypů mikroorganismů i rostlin znásobit výhody plynoucí z mykorhizní symbiózy. Protože s nárůstem světové populace a zvyšováním životní úrovně dochází k zintenzivňování zemědělské produkce, které vyžaduje nadměrné vstupy ve formě hnojiv a pesticidů,

využívání mykorhizní symbiózy, která funguje jako biohnojivo i biologická kontrola patogenů rostlin a navíc zlepšují půdní vlastnosti, může představovat určité omezení těchto vstupů. Zavedení a následné využívání mykorhizní symbiózy v zemědělství ale vyžaduje upravení produkčních postupů. Nadměrné hnojení, orba, využívání pesticidů, monokultury a pěstování nemykorhizních rostlinných druhů mají negativní dopad na mykorhizní houby (rev. Plenchette et al., 2005; rev. Gosling et al., 2006).

Na druhou stranu organické zemědělství (ekologické zemědělství, ekozemědělství) je založeno na omezení vstupů ve formě minerálních hnojiv a pesticidů a na využívání přirozené úrodnosti půdy, která je udržována organickými hnojivy a pestrým střídáním plodin.⁴ Často nepravdivé dodávání chlévského hnoje, kompostu, rostlinných zbytků nebo pomalu se rozpouštějících minerálních hnojiv způsobuje nízkou koncentraci pro rostliny dostupného fosforu a má pozitivní vliv na mykorhizní houby (rev. Gosling et al., 2006). Například v práci autorů Ngosong et al. (2010) bylo ukázáno, že dlouhodobé organické hnojení oproti dlouhodobému využívání minerálních hnojiv zvyšuje biomasu půdních mikroorganismů včetně mykorhizních hub.

Pokud mají být využívány výhody plynoucí s mykorhizní symbiózou, například při převádění půdy dlouhodobě konvenčně ošetřované do organického způsobu zemědělství, je nutné obnovit poškozená půdní společenstva mikroorganismů včetně AM hub, to ale může trvat dlouhou dobu. Je možné tento proces výrazně urychlit dodáním komerčního inokula (rev. Gosling et al., 2006).

Mykorhizní symbióza může být účinná pouze tehdy, je-li zvolena vhodná kombinace genotypů mykorhizních hub i hostitelských rostlin. Moderní odrůdy, při jejichž šlechtění jsou preferovány genotypy, které přijímají živiny (především fosfor) s vysokou efektivitou, často vykazují nižší závislost na mykorhize (rev. Sawers et al., 2008), měly by se proto hledat odrůdy na mykorhize více závislé. Důležité jsou také interakce mykorhizních hub s dalšími mikroorganismy i půdní podmínky v cílových lokalitách, na které je nutno celý systém rostlina – houba optimalizovat.

⁴ http://ec.europa.eu/agriculture/organic/organic-farming/what-organic_cs

5 Materiál a metody

Experimentální práce byla rozdělena do 5 dílčích pokusů (tab. 1). V prvním roce byla testována a vybrána metoda pro přípravu biomasy značené stabilním izotopem dusíku ^{15}N a proběhly pilotní pokusy s rajčetem a pórem, při kterých byl sledován přenos dusíku ^{15}N do rostliny za přítomnosti saprotrfních a mykorhizních hub. V druhém roce byly pokusy s rajčetem a pórem upraveny na základě výsledků pokusů z prvního roku.

	rok provedení	popis
Pokus 1	2009	Příprava organické biomasy kukuřice značené stabilním izotopem dusíku ^{15}N .
Pokus 2	2009	Sledování výnosových vlastností a přenosu izotopu dusíku ^{15}N z organických vstupů do rostliny rajčete za přítomnosti saprotrfních a mykorhizních hub.
Pokus 3	2009	Sledování výnosových vlastností a přenosu izotopu dusíku ^{15}N z organických vstupů do rostliny póru za přítomnosti saprotrfních a mykorhizních hub.
Pokus 4	2010	Sledování výnosových vlastností a přenosu izotopu dusíku ^{15}N z organických vstupů do rostliny rajčete za přítomnosti saprotrfních a mykorhizních hub.
Pokus 5	2010	Sledování výnosových vlastností a přenosu izotopu dusíku ^{15}N z organických vstupů do rostliny póru za přítomnosti saprotrfních a mykorhizních hub.

Tab. 1: Experimentální práce byla rozdělena do několika dílčích pokusů.

5.1 Pokus 1

Při pokusu 1 byl hledán vhodný způsob pro přípravu biomasy značené stabilním izotopem dusíku ^{15}N . Značená biomasa byla následně použita v pokusech 2 a 3 jako zdroj živin.

Obilky kukuřice (*Z. mays* odrůda Ceklad 235) povrchově sterilizované 20 minut v 10% roztoku přípravku SAVO klíčily 3 až 4 dny v perlitu při pokojové teplotě. Poté byly pěstovány ve skleníkových podmínkách (obr. 1) dvěma způsoby:

1. Způsob 1: dlouhodobá kultivace v 10 atom% K^{15}NO_3

Část naklíčených semen rostla v 1/8 Hoaglandově živném roztoku (Hoagland a Amon, 1950), v němž byl veškerý dusík přítomen jako 10 atom% K^{15}NO_3 (KNO_3 obsahující 10 atom% ^{15}N , od firmy Sigma-Aldrich; tab. 2). Vápenaté ionty byly dodány jako $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Celkem bylo kultivováno přibližně 160 rostlin ve 45 l živného roztoku, který byl doplňován destilovanou vodou. Po 16 dnech byly rostliny vyjmuty ze živného roztoku s izotopem ^{15}N . Jejich kořeny byly ponořeny na 3 minuty do předem vychlazeného 1/8 Hoaglandova živného roztoku (bez ^{15}N ; tab. 2), toto bylo

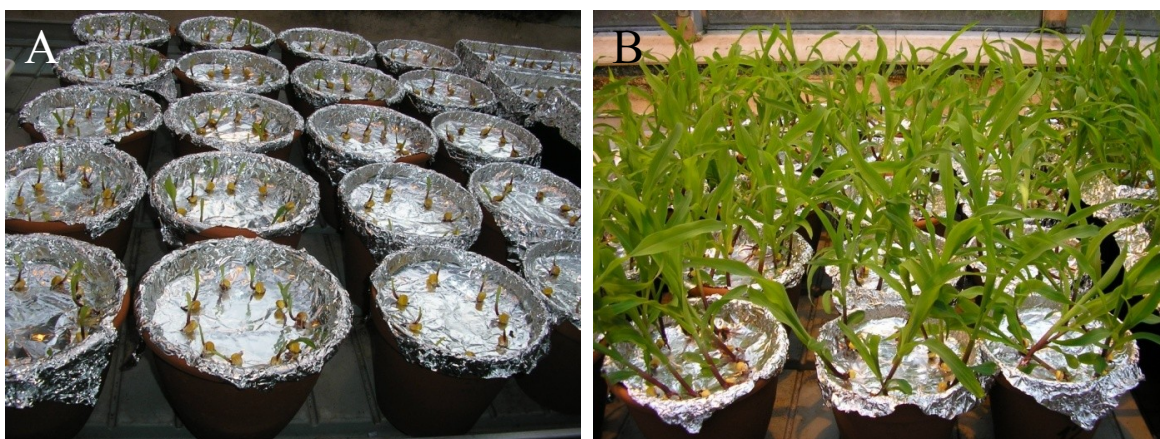
ještě jednou zopakováno v další nádobě s vychlazeným 1/8 Hoaglandovým živným roztokem. Takto se uvolnil ^{15}N z apoplastických prostor kořene.

2. Způsob 2: krátkodobá kultivace v 98 atom% K^{15}NO_3

Druhá část rostlin (přibližně 270) byla pěstována v 1/4 Hoaglandově živném roztoku (50 l; tab. 2) 15 dní. Poté byly den ponechány v roztoku bez dusíku a následně byly přemístěny do 1/4 Hoaglandova roztoku, kde byl veškerý dusík dodán jako K^{15}NO_3 obsahující 98 atom% ^{15}N v koncentraci $300\mu\text{M}$ (Sigma-Aldrich; tab. 2). Vápenaté ionty byly opět dodány ve formě $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Za 2 dny byly rostliny zpracovány podobně jako v předchozím případě – pomocí vychlazeného 1/4 Hoaglandova živného roztoku byl z apoplastu odstraněn stabilní izotop ^{15}N .

	1/8 Hoaglandův roztok	1/8 Hoaglandův roztok s K^{15}NO_3	1/4 Hoaglandův roztok	1/4 Hoaglandův roztok s K^{15}NO_3
makroelementy	mg/l			
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	147,8	0	295,5	0
KNO_3	63,3	189,5 (KNO_3 s 10 atom % ^{15}N)	126,5	30,3 (KNO_3 s 98 atom % ^{15}N)
KH_2PO_4	17	17	34	34
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	30,7	30,7	61,4	61,4
Fe citrát	3,1	3,1	6,1	6,1
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0	92,3	0	184,6
mikroelementy	$\mu\text{g/l}$			
MnCl_2	11,3	11,3	22,5	22,5
H_3BO_4	1,79	1,79	3,58	3,58
ZnSO_4	0,19	0,19	0,38	0,38
$(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_7\text{O}_{24}$	0,09	0,09	0,18	0,18
CuSO_4	0,05	0,05	0,1	0,1

Tab. 2: Složení živných roztoků.



Obr. 4: Pěstování kukuřice značené stabilním izotopem dusíku ^{15}N . A – pohled na semenáčky kukuřice dva dny od založení hydroponického pokusu B – pohled na rostliny kukuřice po 12 dnech pěstování.

Kořeny byly vysušeny buničitou vatou a poté byly rostliny zbaveny obilek, umístěny do papírových sáčků a sušeny do konstantní hmotnosti při 80°C (způsob 1) a při 60°C (způsob 2). Souběžně bylo pěstováno v 1/4 Hoaglandově roztoku bez přidaného dusíku ^{15}N (tab. 2) 12 kontrolních rostlin, které byly po 17 dnech usušeny. Suchá biomasa byla nastříhána na malé kousky a z každé skupiny (sušina značená 98 atom% ^{15}N , sušina značená 10 atom% ^{15}N a kontrola) byly odebrány 4 vzorky, které byly zhomogenizovány na kulovém mlýnku Retsch MM 301 a následně byla Výzkumným ústavem rostlinné výroby, v.v.i. provedena analýza jejich prvkového a izotopového složení na IRMS. Značená biomasa byla využita pro následující experimenty (pokusy 2 a 3). Po jejím důkladném promíchání byla polovina (88, 4 g) poslána do firmy Symbiom, s.r.o, kde byla natrávena saprotrófní houbou *Agrocybe* sp. (obr. 8). Obohacení biomasy bylo přibližně 4,75 atom%, poměr C:N byl 14:1.

5.2 Pokusy 2, 3, 4 a 5

5.2.1 Použité organismy

Během experimentů 2 a 3 byl sledován vliv mykorhizní houby *G. mosseae* BEG25 a saprotrófní houby *Agrocybe* sp. na rostliny rajčete (*S. lycopersicum* odrůda Diana, od firmy Semo, a.s.) a póru (*A. porrum* odrůda Gigante Suizo, Semo, a.s.). V dílčích pokusech 4 a 5 byl studován vliv směsi mykorhizních hub, mykorhizní houby *G. mosseae* BEG25 a saprotrófních hub *T. lanuginosus* KGB a *Gymnopilus* sp. IZO 24 na stejné plodiny. Inokulum mykorhizních a saprotrófních hub dodala firma Symbiom, s.r.o.

5.2.2 Upořádání pokusů 2 a 3

Oba pokusy měly celkem 8 variant – viz tabulka 3: 1) kontrola, která obsahovala pouze sterilní substrát (K), 2) substrát smíchaný se saprotrófní houbou (S; *Agrocybe* sp.; obr. 5), 3) mykorhizní houbou (M; *G. mosseae* BEG25; obr. 6), 4) značenou biomasou (O; obr. 7) a dále kombinace: 5) M+O, 6) S+O (obr. 8), 7) M+S a 8) S+O+M (tab. 3). Každá varianta obsahovala 5 rostlin (Kromě varianty S+O, kde bylo možné hodnotit pouze 4 rostliny). Kořeny rostlin byly od značené biomasy i saprotrófní a mykorhizní houby odděleny nylonovou membránou Uhelon 130T Extra, která je nepropustná pro kořeny, zatímco mycelium jí prorůstá.

Semena póru a rajčete byla sterilizována v 10% roztoku přípravku SAVO po dobu 10 min, a potom vyseta do sterilizovaného substrátu, který obsahoval zahradní zeminu a písek v poměru 1:3. Substrát byl sterilizován 6 hod při 80°C a následně 18 hod chladnul,

celý proces byl opakován třikrát. Sazenice póru rostly ve skleníkových podmínkách 7 týdnů, rajče bylo předpěstovááno dva týdny.

	biomasa značená ^{15}N	<i>Glomus mosseae</i> BEG25	<i>Agrocybe</i> sp.
K	-	-	-
M	-	+	-
S	-	-	+
O	+	-	-
S+O	+	-	+
M+O	+	+	-
M+S	-	+	+
S+O+M	+	+	+

Tab. 3:
Tabulka znázorňuje plán uskutečněných 2 pilotních pokusů na rostlinách rajčete a póru – ošetření bylo třífaktoriální: mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25 (M), saprotrofní houba *Agrocybe* sp. (S) a organická biomasa značená izotopem ^{15}N (O).



Obr. 5: Saprotrofní houba *Agrocybe* sp.



Obr. 6: Inokulum mykorhizní houby *G. mosseae* BEG25.



Obr. 7: Sušina značená stabilním izotopem dusíku ^{15}N .

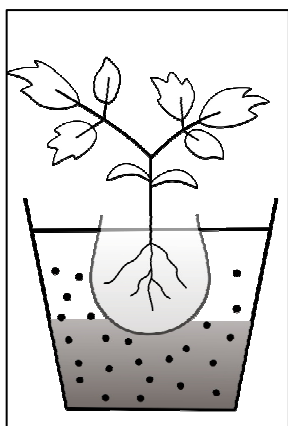


Obr. 8: Značená biomasa natrávená saprotrofní houbou *Agrocybe* sp.

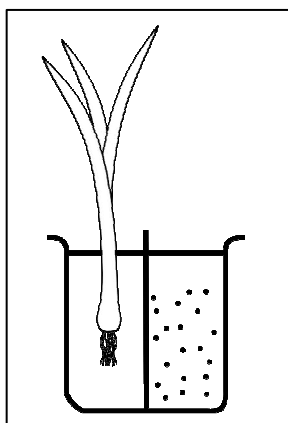
Pór byl následně (od začátku srpna) pěstován v části rhizoboxu (objem 1100 ml), kterou oddělovala nylonová membrána od ostatních složek (obr. 10, 12). Jednotlivé varianty obsahovaly možné kombinace přítomnosti nebo absence 3 faktorů (tab. 3): 1) mykorhizní houby (2% inokulace), 2) saprotrofní houby (2% inokulace) nebo 3) značené biomasy (3,6 g sušiny v nepřítomnosti saprotrofní houby nebo 9,70 g natrávené biomasy

v přítomnosti saprotrfní houby). Potřebné složky byly zamíchány do substrátu a poté převrstveny přibližně 2 cm sterilního substrátu. Rhizoboxy byly nakonec obaleny alobalem, který přesahoval nad jejich horní okraj, aby se zamezilo kontaminaci při zalévání.

Rostliny rajčete byly pěstovány také od začátku srpna v 1,5 l květináčích – ve váčcích z nylonové membrány s 250 ml sterilního substrátu (obr. 9 a 11). Květináč dále obsahoval 600 ml substrátu, ve kterém byly zamíchány dané složky (tab. 3; 2 % mykorhizní houby, 2 % saprotrfní houby, 4,9 g značené biomasy v nepřítomnosti saprotrfní houby nebo 13,2 g natrávené biomasy v přítomnosti saprotrfní houby). Nakonec byl květináč doplněn sterilním substrátem a obalen hliníkovou folií, aby se zamezilo možné kontaminaci při zalévání.



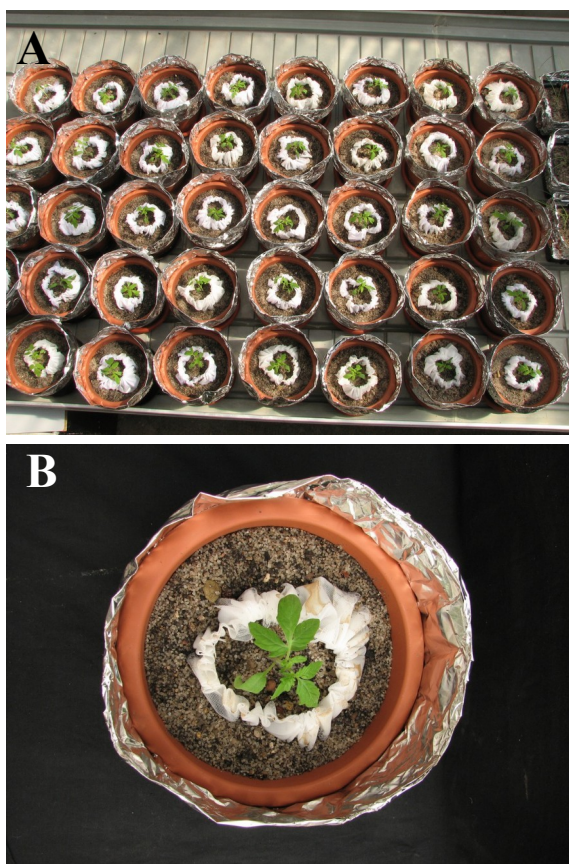
Obr. 9:
Kořeny rajčete jsou od saprotrfní a mykorhizní houby, značené organické hmoty nebo jejich kombinací odděleno nylonovou membránou Uhelon 130T Extra.



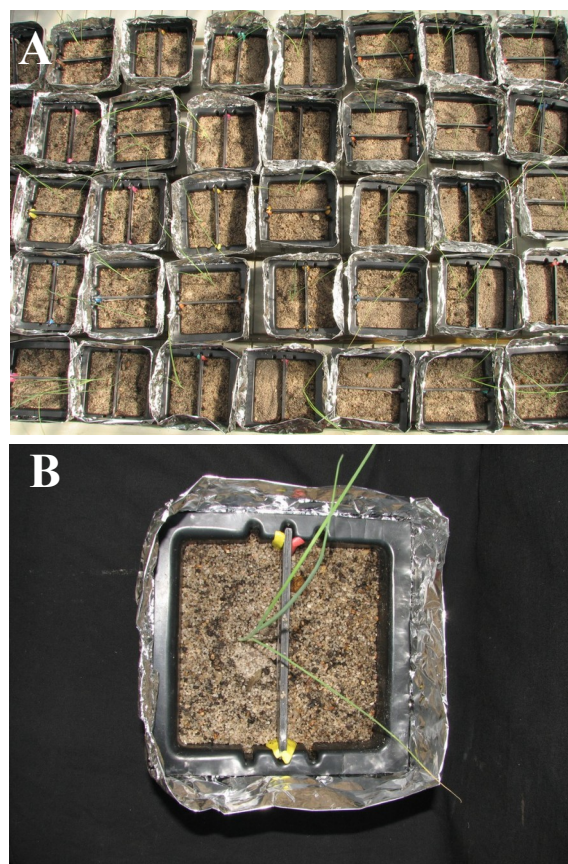
Obr. 10:
Pór roste v první části rhizoboxu, ve druhé části je sterilní substrát nebo saprotrfní houba, mykorhizní houba, značená organická hmota nebo jejich kombinace. Obě části jsou oddělené nylonovou membránou Uhelon 130T Extra.

Rostliny rajčete i póru byly zalévány 3x týdně destilovanou vodou (cca 75 ml na rostlinu rajčete a cca 60 ml na rostlinu póru). Od konce září bylo rostlinám uměle přisvětlováno (12 hod denně). Během pěstování bylo 3x týdně zaznamenáváno množství květů a plodů na jednotlivých rostlinách rajčete.

Experimenty byly ukončeny po 10 týdnech pěstování rajčat a po 12 týdnech pěstování póru.



Obr. 11: Rostliny rajčete po přesazení do části květináčů oddělených nylonovou membránou od mykorhizních a saprotrofních hub a značené biomasy. A – celkový pohled, B – detail jedné rostliny.



Obr. 12: Rostliny póru přesazené do rhizoboxů rozdělených na 2 části přepážkou s nylonovou membránou. A – celkový pohled, B – detail jedné rostliny.

5.2.3 Uspořádání pokusů 4 a 5

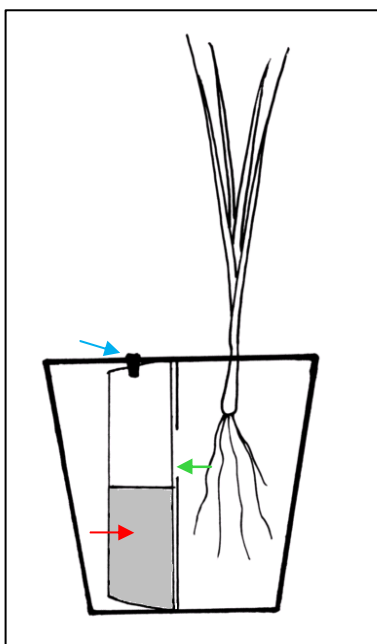
Oba pokusy měly celkem 9 variant (tab. 4). Všechny obsahovaly biomasu značenou stabilním izotopem dusíku ^{15}N a lišily se přítomností nebo nepřítomností mykorhizních a saprotrofních hub: 1) kontrola byla tvořena pouze sterilním substrátem (O); další varianty se skládaly ze substrátu smíchaného se 2) saprotrofní houbou *T. lanuginosus* KGB (O+S1) nebo 3) *Gymnopilus* sp. IZO 24 (O+S2), 4) mykorhizní houbou *G. mosseae* BEG25 (O+M1) nebo 5) směsí mykorhizních hub (*G. mosseae* BEG95 a BEG25, *G. intraradices* BEG140 a BEG163, *G. claroideum* BEG96 a BEG210); O+M2), další varianty obsahovaly kombinace těchto hub: 6) O+S1+M1, 7) O+S1+M2), 8) O+S2+M1 a 9) O+S2+M2. Biomasa značená ^{15}N a saprotrofní houby byly od kořenů rajčete a póru odděleny nylonovou membránou Uhelon 130T Extra, která zabraňuje průniku kořenů rostlin, zatímco mycelium mykorhizních hub jí prorůstá (obr. 13).

	biomasa značená ^{15}N	<i>Glomus</i> <i>mosseae</i> BEG25	směs mykorhizních hub	<i>Thermomyces</i> <i>lanuginosus</i> KGB	<i>Gymnopilus</i> sp. IZO 24
O	+	-	-	-	-
O+S1	+	-	-	+	-
O+S2	+	-	-	-	+
O+M1	+	+	-	-	-
O+M2	+	-	+	-	-
O+M1+S1	+	+	-	+	-
O+M2+S1	+	-	+	+	-
O+M1+S2	+	+	-	-	+
O+M2+S2	+	-	+	-	+

Tab. 4: Tabulka znázorňuje složení jednotlivých variant experimentů 4 a 5. Všechny obsahovaly biomasu značenou stabilním izotopem dusíku ^{15}N (O) a lišily se přítomností nebo nepřítomností mykorhizních a saprotrfických hub: *G. mosseae* BEG25 (M1), směs mykorhizních hub (M2), *T. lanuginosus* KGB (S1), *Gymnopilus* sp. IZO 24 (S2).

Pro přípravu biomasy (kukuřice) značené ^{15}N byl použit způsob 1 (pokus 1) – dlouhodobá kultivace v 1/8 Hoaglandově roztoku, který byl obohacen izotopem ^{15}N . Veškerý dusík v živném roztoku byl dodán ve formě KNO_3 obsahující přibližně 3,5 atom% ^{15}N . (Vznikl namícháním KNO_3 bez přidaného ^{15}N a 10 atom% K^{15}NO_3 od firmy Sigma-Aldrich). Rostliny kukuřice byly pěstovány přibližně 23 dní a po usušení, nastříhání a důkladném promíchání byly 2/3 celkové sušiny poslány do firmy Symbiom, s.r.o., kde byla 4 týdny před zakládáním skleníkového hrnkového pokusu 1. polovina inokulována saprotrfní houbou *T. lanuginosus* KGB a 2. *Gymnopilus* sp. IZO 24 (obr. 16 a 17). Biomasa kukuřice obsahovala 3,5 atom% ^{15}N , $\delta^{13}\text{C}$ byla -14,0 ‰, poměr C:N odpovídal 20:1.

Semena pórů a rajčete byly sterilizovány v 10% roztoku SAVO 10 min, potom byly vysety do substrátu, který obsahoval zahradní zeminu a písek v poměru 1:3. Substrát byl sterilizován třikrát 6 hod při 80°C a následně 18 hod chladnul. Sazenice pórů rostly ve skleníkových podmínkách 7 týdnů, rajče bylo předpěstováno 2 týdny. Před samotným zakládáním skleníkového hrnkového pokusu byly připraveny dózy (Heidrun – Mc Fresh; objem: 0,9 l): 1) ve víku byl vyřezán otvor (9,5 x 4 cm), 2) v boční stěně byla vyvrtána dírka na dolévání destilované vody do dózy, která byla později ucpána pryžovou zátkou, 3) dovnitř do výšky otvoru ve víku byl vlepen polyetylenový sáček pro zamezení difúze živin ke kořenům rostlin, 4) byla nastříhána nylonová membrána Uhelon 130T Extra, která byla později umístěna pod víko (obr. 13 a 14).



Obr. 13:

Uspořádání pokusů s rajčetem a pórem. Biomasa značená ^{15}N a saprotrófní houba jsou umístěny ve spodní části dózy v sáčku (červená šipka) a od kořenů rajčete a póru je odděluje nylonová membrána Uhelon 130T Extra (zelená šipka), která zabraňuje průniku kořenů rostlin, zatímco mycelium mykorhizních hub jí prorůstá. Tato membrána je přichycena víkem. V horní části dózy je otvor utěsněný pryžovou zátkou pro dolévání vody (modrá šipka).



Obr. 14:

Dóza připravená pro pokusy: ve víku je vyřezán otvor pro prorůstání hyf mykorhizních hub a kořenů rostlin; pod víko bude umístěna nylonová membrána Uhelon 130T Extra, která umožní průnik mykorhizních hub do sáčku se značenou biomasou; ve vrchní stěně dózy je navrtán otvor pro dolévání destilované vody. Vlepený polyetylenový sáček má zamezit difúzi živin ke kořenům rostlin a póru.

Do upravených vysterilizovaných (96% EtOH) dóz byl nasypán písek (200 ml; písek byl sterilizován při 121 - 125°C po dobu 2 hodin) smíchaný s jednou s následujících složek: 1) sušinou značenou stabilním izotopem dusíku ^{15}N (obr. 15), 2) značenou biomasou natrávenou saprotrófní houbou *T. lanuginosus* KGB (obr. 16) nebo 3) *Gymnopilus* sp. IZO 24 (obr. 17). Tato směs byla převrstvena 100 ml sterilního písku, zbytek dózy byl zaplněn 400 ml sterilního substrátu (zahradní zemina a písek v poměru 1:3 a 2 % sterilního substrátu bez mykorhizních hub; zahradní zemina byla radiačně sterilizována firmou BIOSTER, a.s.; písek byl sterilizován při 121 - 125°C po dobu 2 hod). Dózy byly uzavřeny víkem, pod které byla umístěna nylonová membrána Uhelon 130T Extra. Pro zvýšení odolnosti dóz proti prorůstání kořenů byly ještě oblepeny lepicí páskou, utěsněny plastelínou a obvázány polypropylenovým provázkem (obr. 18).

Rostliny póru byly vysazovány na konci června, rostliny rajčete na začátku srpna. Dóza byla umístěna kolmo na dno květináče (sterilizovány 96% EtOH; obr. 13) a byla

obsypána 3,5 l substrátu, který obsahoval 2 % 1) mykorhizní houby *G. mosseae* BEG25, 2) směsi mykorhizních hub nebo 3) sterilního substrátu bez mykorhizních hub (tab. 4). Do těchto květináčů byla poté zasazena sazenice rajčete nebo póru. Dno a vrchní okraj květináče byly obaleny alobalem (pro snížení pravděpodobnosti kontaminací; obr. 19 a 20).



Obr. 15: Sušina značená stabilním izotopem dusíku ^{15}N .



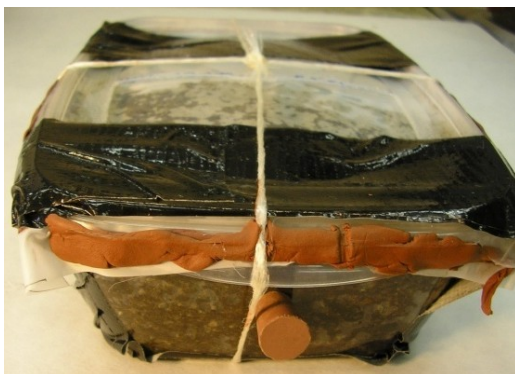
Obr. 16: Sušina značená stabilním izotopem dusíku ^{15}N 4 týdny po inokulaci saprotrfí houbou *Thermomyces lanuginosus* KGB.



Obr. 17: Sušina značená stabilním izotopem dusíku ^{15}N 4 týdny po inokulaci saprotrfí houbou *Gymnopilus* sp. IZO 24.

Rostliny byly 3x týdně zalévány destilovanou vodou. U rajčat byla 3x přibližně po 14 dnech měřena výška a sledována tvorba plodů a květů. Od konce září bylo rostlinám rajčete uměle přisvětlováno (12 hod denně).

Experimenty byly ukončeny po 11 týdnech pěstování rostlin rajčat a po 20 týdnech pěstování rostlin póru.



Obr. 18:

Dóza naplněná směsí písku a biomasy značené stabilním izotopem dusíku ^{15}N (případně natrávené značené biomasy saprotrófní houbou). Tato směs je převrstvena sterilním pískem, zbytek dózy je zaplněn sterilním substrátem (zahradní zemina a písek v poměru 1:3 a 2 % sterilního substrátu bez mykorrhizních hub). Dóza je uzavřena víkem, pod kterým je umístěna nylonová membrána Uhelon 130T Extra. Pro zvýšení odolnosti dóz proti prorůstání kořenů jsou ještě oblepeny lepicí páskou, utěsněny plastelínou a obvázaný polypropylenovým provázkem. Otvor pro dolévání vody je uzavřen pryžovou zátkou.



Obr. 19: Pohled na květináč s dózou shora při založení pokusu.



Obr. 20: Rajčata po 4 týdnech pěstování – pohled z boku.

5.2.4 Stanovení morfologických parametrů

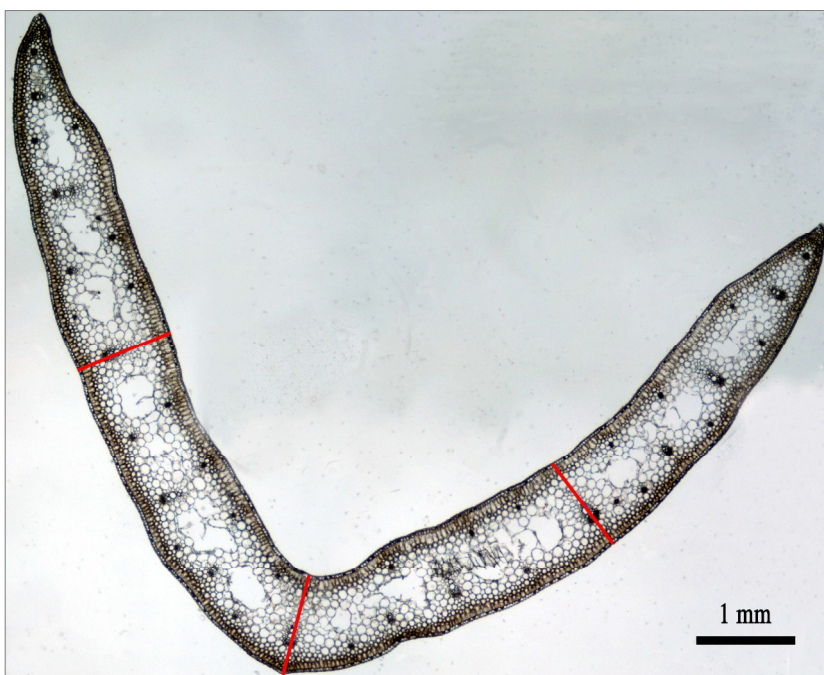
Kořeny rostlin byly očištěny od substrátu, osušeny a následně byla zjištěna čerstvá hmotnost.

U rostlin rajčete byla změřena délka prýtu. Byly spočítány listové nody, listové nody před prvním květenstvím a listy u každé rostliny, dále byl zaznamenán celkový počet květenství, květů a plodů. Prýt byl rozdělen na listy, stonek, květy a jednotlivé plody a každá část byla zvážena. Rostliny byly sušeny při 65°C do konstantní hmotnosti a poté byly zaznamenány suché hmotnosti. Ze suchých hmotností byl spočítán sklizňový index (poměr hmotnosti plodů a celkové hmotnosti rostliny).

Obvod prýtu rostlin póru byl změřen u kořene a ve vzdálenosti 3 cm nad kořenem. Byly spočítány listy. U jednotlivých listů byla změřena délka (včetně pochvy) a šířka – ve vzdálenosti 5 cm od pochvy nejstaršího živého listu (pokus 3) nebo od pochvy přibližně 9. Listu (pokus 5). Byla stanovena suchá a čerstvá hmotnost prýtu (sušení při 65°C).

5.2.4.1 Zjištění tloušťky listů póru

Ve vzdálenosti 5 cm od pochvy nejstaršího listu póru (pokus 3, tab. 1) byl odebrán přibližně 1 cm dlouhý vzorek pro stanovení tloušťky listu, který byl fixován v 70% FAA. Ze segmentu listu byly vytvořeny příčné řezy na ručním mikrotomu, které byly pozorovány mikroskopem Olympus BX 50 a v programu NIS-Elements AR 3.1 byla stanovena tloušťka listu v místě středního žebra a prostředních velkých cévních svazků v částech listu pomyslně rozděleného středním žebrem (obr. 21). V jednotlivých řezech bylo spočítáno celkové množství cévních svazků.



Obr. 21:
Příčný řez listem póru.
Červené čáry vyznačují
místa, ve kterých byla
změřena tloušťka listu.
Světlé pole.

5.2.5 Stanovení mykorhizní kolonizace

Z očištěných kořenů byl odebrán vzorek (1 g), který byl fixován v 70% EtOH, později byl obarven a použit pro určení míry kolonizace kořenů mykorhizními houbami.

5.2.5.1 Barvení mykorhizních kořenů

Kořeny byly nejprve projasněny v 10% NaOH po dobu 30 min při 90°C, po důkladném promytí byly vzorky okyseleny v 1% HCl 20 min při pokojové teplotě. Okyselené kořeny se ponořily do 0,05% trypanové modři v laktoglycerolu (80% kyselina mléčná, glycerol a destilovaná voda v poměru 1:1:1), kde byly barveny 30 min při 90°C. Přebytková barva byla vymyta pod tekoucí vodou a kořeny dále uchovávány v laktoglycerolu (Koske a Gemma, 1989).

5.2.5.2 Průsečíková metoda pro stanovení mykorhizní kolonizace

Míra kolonizace kořenů rostlin mykorhizními houbami byla stanovena pomocí průsečíkové metody (Giovannetti a Mosse, 1980). Kořeny byly náhodně rozloženy na Petriho misku s vyznačenou čtvercovou sítí a pozorovány binokulární lupou Olympus SZ X7. Bylo sledováno 200 průsečíků kořenů s touto sítí a u každého bylo určeno, zda je daná část kořenu kolonizována mykorhizní houbou (+) nebo není (-). Kolonizace kořenů byla spočítána pomocí následujícího vzorce: $\%C = 100 * \Sigma(+)/(\Sigma(+) + \Sigma(-))$.

5.2.6 Izotopové a prvkové analýzy

Sušiny listů (pokusy 2, 3 a 5, tab. 1) póru a rajčete nebo plodů (pokus 4, tab. 1) rostlin rajčete byly zhomogenizovány na kulovém mlýnku Retsch MM 301. Následně byl Výzkumným ústavem rostlinné výroby, v.v.i. pomocí IRMS určen celkový obsah dusíku a obohacení izotopem ^{15}N a ^{13}C .

5.2.7 Stanovení antioxidační aktivity

Z vybělené části póru (pokus 5, tab. 1) byl odebrán vzorek (přibližně 20 g čerstvé hmotnosti), který se odvzdušnil, zatavil do polyetylenových sáčku pomocí svářečky fólií s funkcí odsávání vzduchu (Eta 076290000) a zmrazil (-20°C).

Antioxidační kapacita póru byla analyzována Výzkumným ústavem potravinářským Praha, v.v.i.: 2 – 3 g homogenátu vzorku byly doplněny do 10 ml MetOH, následně třepány po dobu 10 min a odstředěny (7000 rpm, 15 min, 5°C). Činidlo FRAP bylo připraveno smísením 100 ml 300 mM octanového pufru (pH 3,6), 10 ml 10mM TPTZ (2,4,6-tri(2-pyridyl)-1,3,5-triazin) ve 40 mM HCl a 10ml 20 mM FeCl_3 . Ke 4 ml činidla bylo přidáno 200 μl extraktu a po reakční době 30 min při 37°C byl měřen nárůst absorbance při 593 nm proti octanovému pufru. Výsledky jsou vyjádřeny jako μg kyseliny askorbové v 1 g vzorku, které by měly stejnou antioxidační aktivitu jako analyzovaný vzorek. Použitá metoda vychází ze studií autorů Benzie a Strain (1996) a Dudonne et al. (2009).

5.3 Statistické zpracování

Data byla analyzována jednocestnou ANOVOU ve statistickém softwaru NCSS 2000. Pro data s normálním rozdělením hodnot byl použit Tukey-Kramerův test, v opačném případě Kruskal-Wallisův test. Korelace mezi obohacením ^{15}N a ^{13}C u rostlin rajčete byla zjišťována pomocí Pearsonova korelačního koeficientu.

6 Výsledky

6.1 Výběr metody pro přípravu biomasy značené ^{15}N

Značené rostliny kukuřice byly připraveny dvěma různými způsoby (pokus 1, tab. 1): 1) krátkodobou kultivací několikadenních rostlin v roztoku, kde byl veškerý dusík přítomný jako KNO_3 obsahující 98 atom% ^{15}N , a 2) dlouhodobou kultivací v roztoku s KNO_3 obsahující 10 atom% ^{15}N . Obohacení vzniklé biomasy izotopem ^{15}N bylo vyšší při kultivaci způsobem 1 a činilo více než 7 atom% ^{15}N , zatímco rostliny kultivované způsobem 2 obsahovaly pouze 3 atom% ^{15}N (tab. 5). Z výše uvedeného důvodu byla v následujících experimentech (pokusy 4 a 5; tab. 1) využita 1. metoda kultivace (způsob 1).

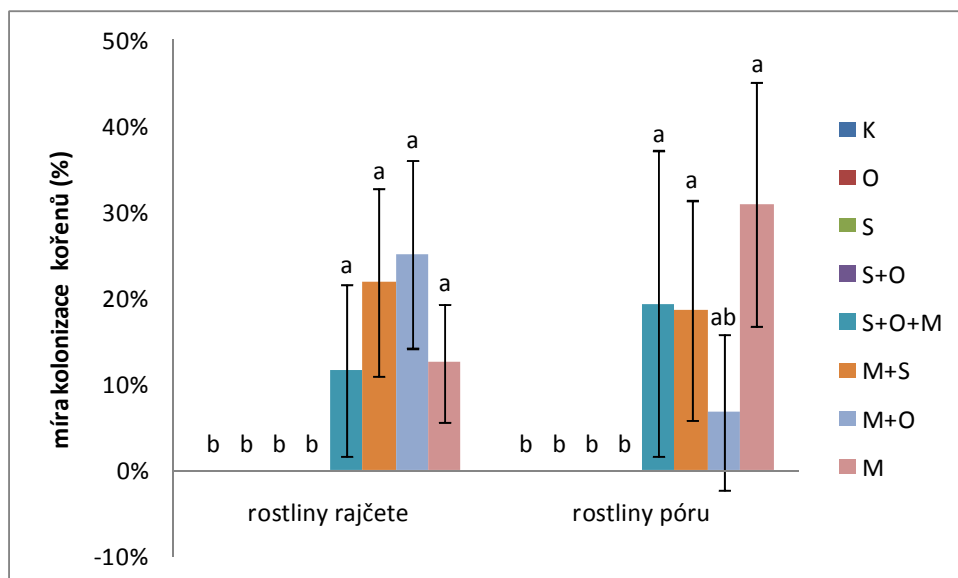
	APC ^{15}N (atom%)
kontrola	0,37
způsob 1: dlouhodobá kultivace v 10 atom% K^{15}NO_3	7,18
způsob 2: krátkodobá kultivace v 98 atom% K^{15}NO_3	3,09

Tab. 5: Obohacení rostlin kukuřice izotopem ^{15}N při použití různé metody značení. Ke kontrolní variantě nebyl tento izotop přidáván.

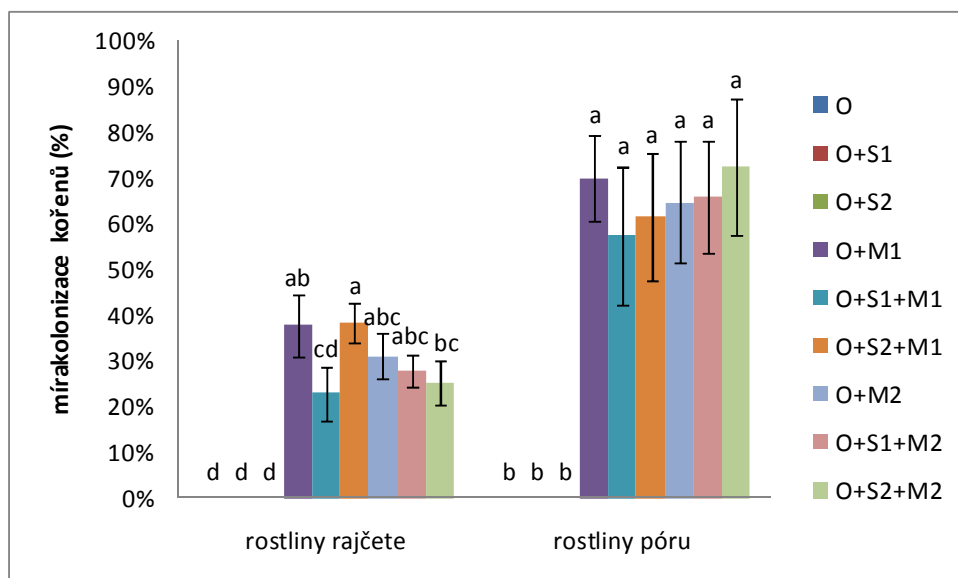
6.2 Kolonizace kořenů rostlin mykorhizními houbami

Kolonizace kořenů rajčete a póru mykorhizními houbami byla pozorována pouze ve variantách, které byly ošetřeny mykorhizní houbou. V prvním roce (pokusy 2 a 3, tab. 1) byl rozvoj mykorhizní symbiózy v kořenech sledovaných rostlin obecně nízký (kolonizace kořenů se pohybovala v průměru mezi 7 a 31 %) a v rámci variant velmi variabilní (graf 1). V pokusech 4 a 5 provedených v následujícím roce bylo kolonizováno přibližně 30 % kořenů rajčete a 65 % kořenů póru (graf 2). Kolonizace rostlin rajčete mykorhizní houbou *G. mosseae* v přítomnosti mykorhizní houby *T. lanuginosus* (O+S1+M1) signifikantně nižší v porovnání s rostlinami ošetřenými pouze touto mykorhizní houbou (O+M1) nebo zároveň i saprotrofem *Gymnopilus* sp (O+M1+S2). Kolonizace rostlin rajčete v přítomnosti saprotrofní houby *Gymnopilus* sp. byla průkazně

nižší při inokulaci směsí mykorhizních hub (O+S2+M2) než při ošetření pouze AM houbou *G. mosseae* (O+S2+M1; graf 2).



Graf 1: Míra kolonizace kořenů rajčete a póru mykorhizními houbami (pokusy 2 a 3); K – kontrolní varianta, O – biomasa značená izotopem ^{15}N , S – saprotrofní houba *Agrocybe* sp., M – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou u dané rostliny statisticky významně odlišné (Kruskal-Wallisův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=5$).



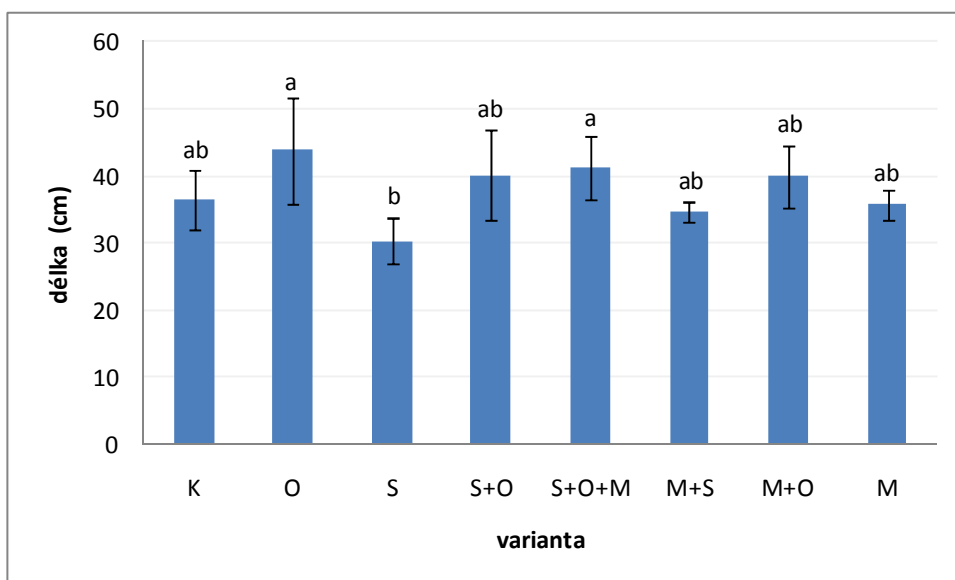
Graf 2: Míra kolonizace kořenů rajčete a póru mykorhizními houbami (pokusy 4 a 5); O – biomasa značená izotopem ^{15}N (kontrolní varianta – bez přidání hub), S1 – saprotrofní houba *T. lanuginosus* KGB, S2 – saprotrofní houba *Gymnopilus* sp. IZO 24, M1 – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25, M2 – směs mykorhizních hub. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou u dané rostliny statisticky významně odlišné (Kruskal-Wallisův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=6$).

6.3 Růst rostlin rajčete

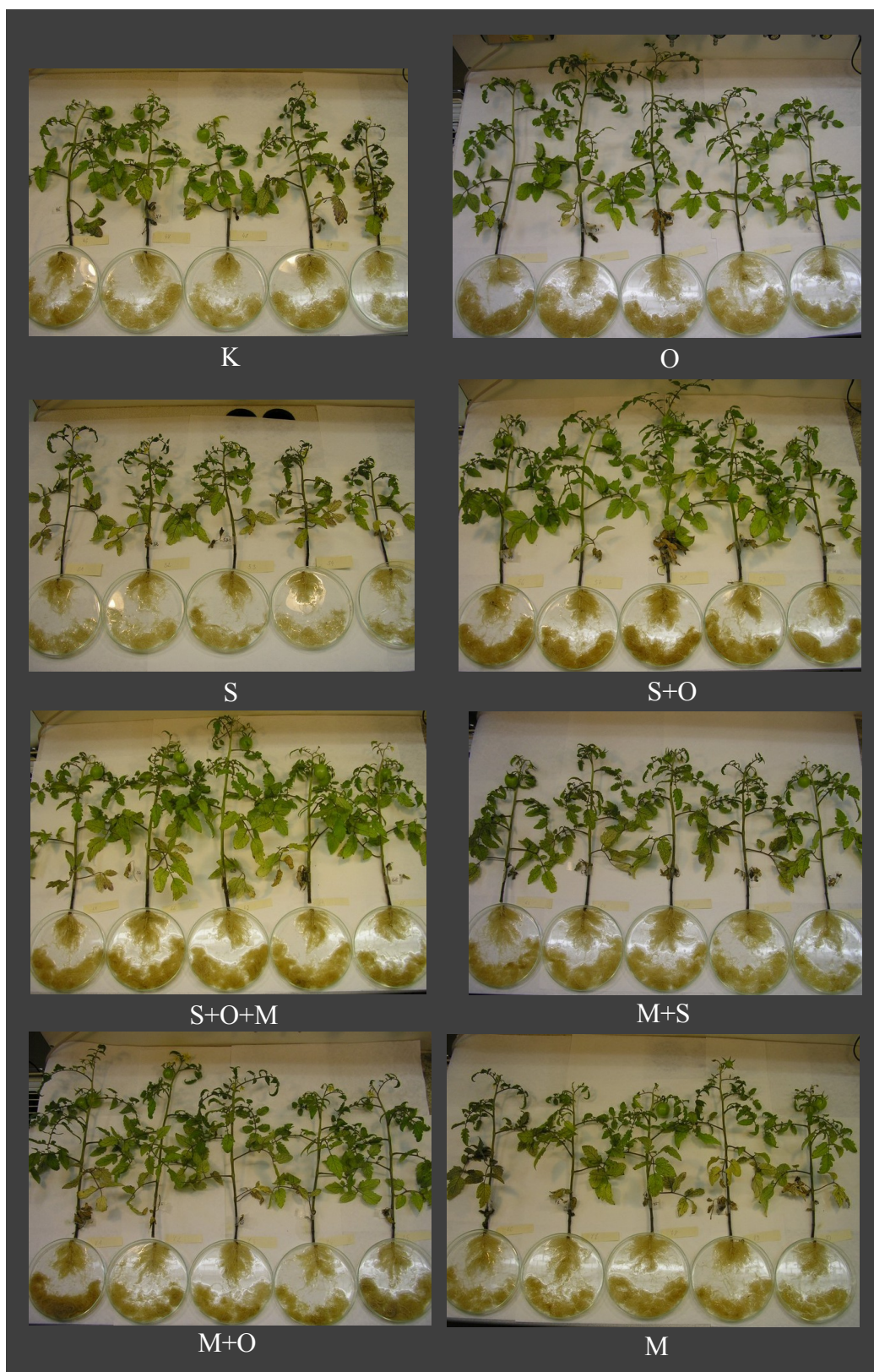
6.3.1 Pokus 2

Rostliny rajčete z pilotního experimentu (obr. 22) ošetřené saprotrófními i mykorrhizními houbami (S+O+M) nebo pouze saprotrófními houbami (S+O) za přítomnosti dodané biomasy vykazovaly obecně statisticky významný nárůst nebo trend zvýšení hodnot sledovaných parametrů v porovnání s kontrolou (K), naopak při inokulaci pouze saprotrófními houbami (S) docházelo k trendu nebo signifikantnímu poklesu. V některých případech byl pozorován pozitivní vliv i mykorrhizní houby v kombinaci s organickou hmotou.

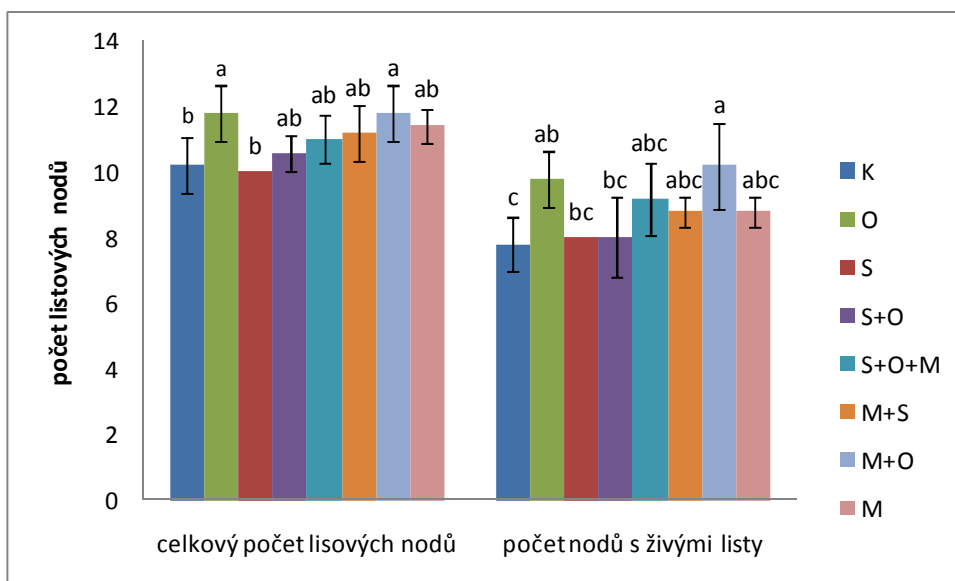
Průměrná délka prýtu jednotlivých variant se průkazně nelišila od kontroly (graf 3). Rostliny v přítomnosti organické hmoty (O) nebo organické hmoty a mykorrhizních hub (M+O) vykazovaly vyšší počet listových nodů i listů (graf 4). Počet nodů před 1. založeným květenstvím se nelišil. Průměrná celková čerstvá i suchá hmotnost rostlin rajčete varianty S+O+M a S+O byla signifikantně vyšší než kontrola (graf 5; FW nezobrazeny). Podobně byl u těchto variant (S+O+M a S+O) pozorován i statisticky významný pozitivní vliv nebo trend zvýšení čerstvé a suché hmotnosti listu a stonku (graf 6; FW nezobrazeny). Naopak čerstvá hmotnost stonku, listů a kořene varianty S byla průkazně nižší v porovnání s kontrolou (data nezobrazena), u této varianty byl pozorován i trend snížení suché hmotnosti výše jmenovaných částí rostliny (graf 6).



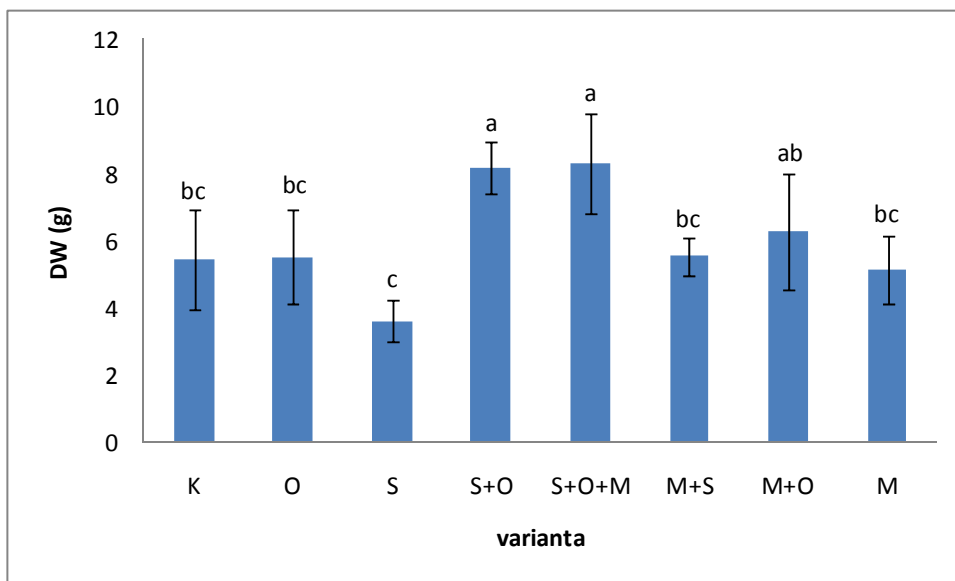
Graf 3: Průměrná délka prýtu rostlin rajčete (pokus 2); K – kontrolní varianta, O – biomasa značená izotopem ^{15}N , S – saprotrófní houba *Agrocybe* sp., M – mykorrhizní houba *G. mosseae* BEG25. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou významně odlišné (Tukey-Kramerův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=5$).



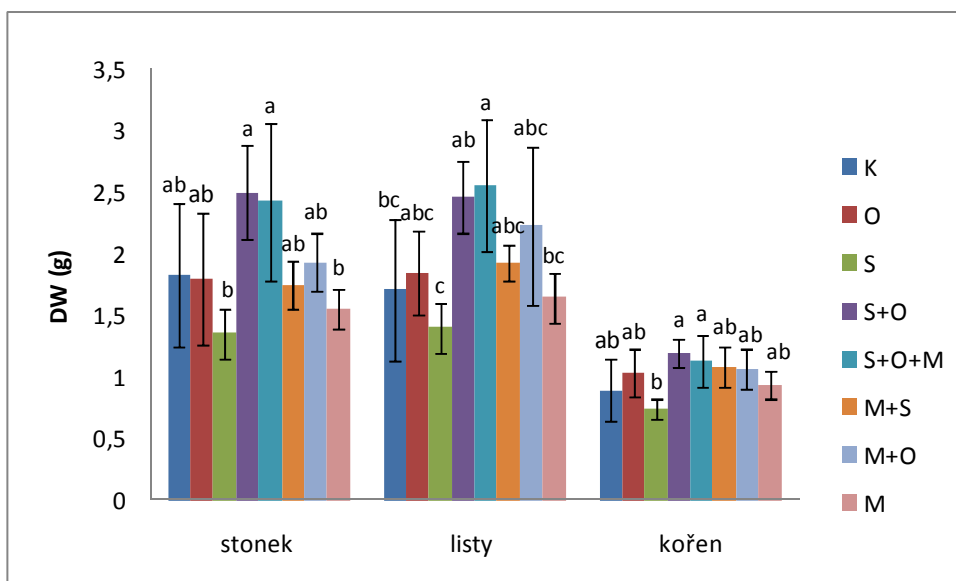
Obr. 22: Rostliny rajčete po ukončení experimentu; K – kontrolní varianta, O – biomasa značená izotopem ^{15}N , S – saprotrófní houba *Agrocybe* sp., M – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25.



Graf 4: Průměrný celkový počet listových nodů a počet nodů s listy u rostlin rajčete (pokus 2); K – kontrolní varianta, O – biomasa značená izotopem ^{15}N , S – saprotrófní houba *Agrocybe* sp., M – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou u daného měření statisticky významně odlišné (Tukey-Kramerův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=5$).

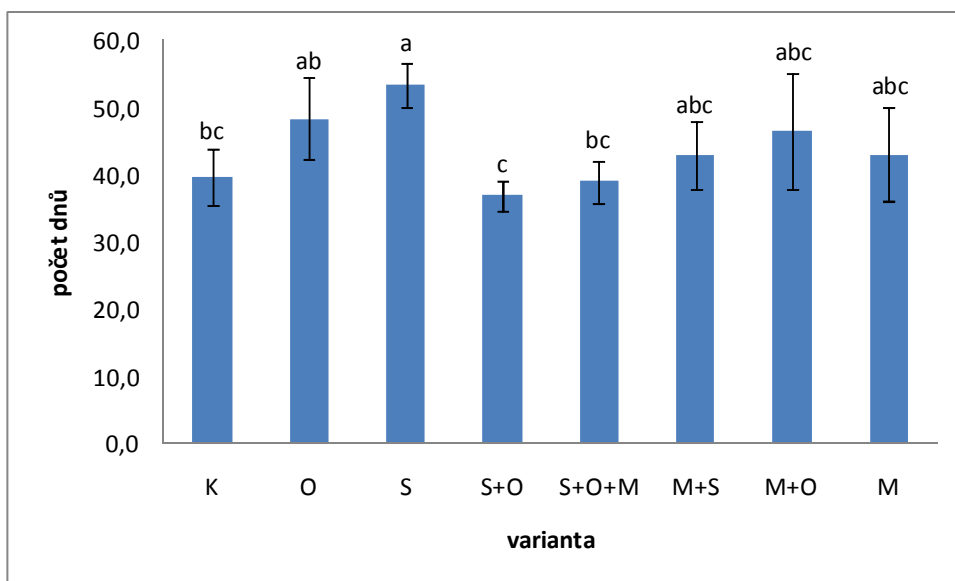


Graf 5: Průměrná celková suchá hmotnost rostlin rajčete (pokus 2); K – kontrolní varianta, O – biomasa značená izotopem ^{15}N , S – saprotrófní houba *Agrocybe* sp., M – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou statisticky významně odlišné (Tukey-Kramerův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=5$).

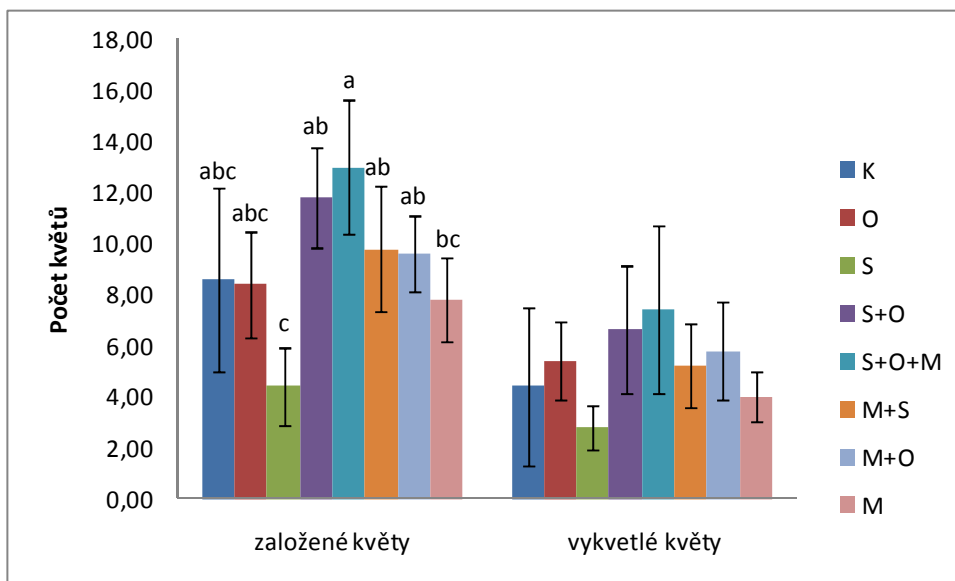


Graf 6: Průměrná suchá hmotnost stonku, listů a kořene rostlin rajčete (pokus 2); K – kontrolní varianta, O – biomasa značená izotopem ^{15}N , S – saprotrfní houba *Agrocybe* sp., M – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou u dané části rostliny statisticky významně odlišné (Tukey-Kramerův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=5$).

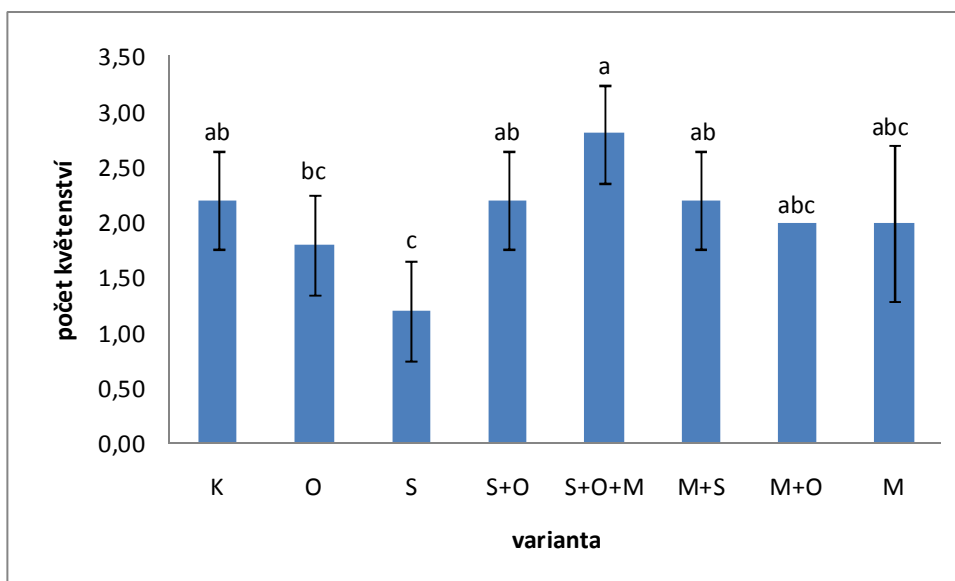
Rostliny inokulované pouze saprotrfní houbou (S) kvetly průkazně později (graf 7). Počet květů u jednotlivých variant nebyl signifikantně odlišný od kontrolních rostlin, byl ale pozorován trend vyššího počtu založených i vykvetlých květů u variant S+O+M a S+O a naopak nižšího počtu u varianty S (graf 8). U varianty S bylo také založeno méně květenství v porovnání s kontrolou, zatímco při kombinovaném ošetření a za přítomnosti dodané organické hmoty (S+O+M) byl zaznamenán trend vyššího počtu květenství (graf 9). Suchá hmotnost květů byla signifikantně vyšší u variant S+O+M a S+O v porovnání s kontrolou, čerstvá hmotnost květů se nelišila (data nezobrazena). Průměrný počet plodů se nelišil, nicméně u varianty S byl pozorován trend snížení počtu plodů (data nezobrazena). Suchá i čerstvá hmotnost plodů byla velmi proměnlivá a u jednotlivých variant se signifikantně nelišila od kontroly, ale byl sledován trend vyšší hmotnosti 1. založeného plodu i všech plodů u variant S+O+M a S+O, naopak trend nižší hmotnosti plodů se projevil u varianty S (graf 10; FW nezobrazena). Ošetření saprotrfní houbou mělo negativní efekt na sklizňový index, zatímco v případě přítomnosti saprotrfní houby a dodané biomasy kukuřice (S+O) nebo i mykorhizní houby (S+O+M) se ukázal trend vyššího sklizňového indexu (graf 11).



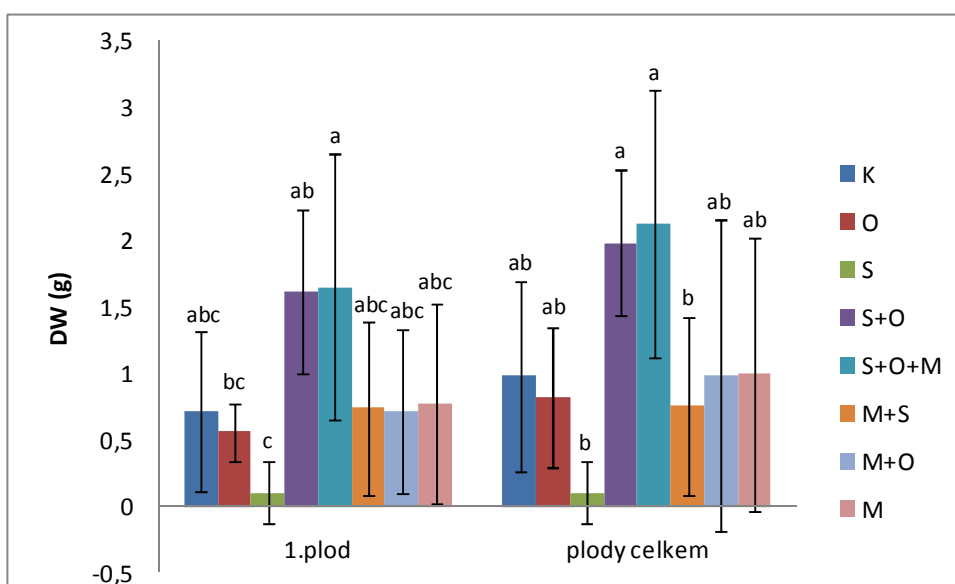
Graf 7: Průměrný počet dnů od založení experimentu do nástupu kvetení rostlin rajčete (pokus 2); K – kontrolní varianta, O – biomasa značená izotopem ^{15}N , S – saprotrofní houba *Agrocybe* sp., M – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou statisticky významně odlišné (Tukey-Kramerův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=5$).



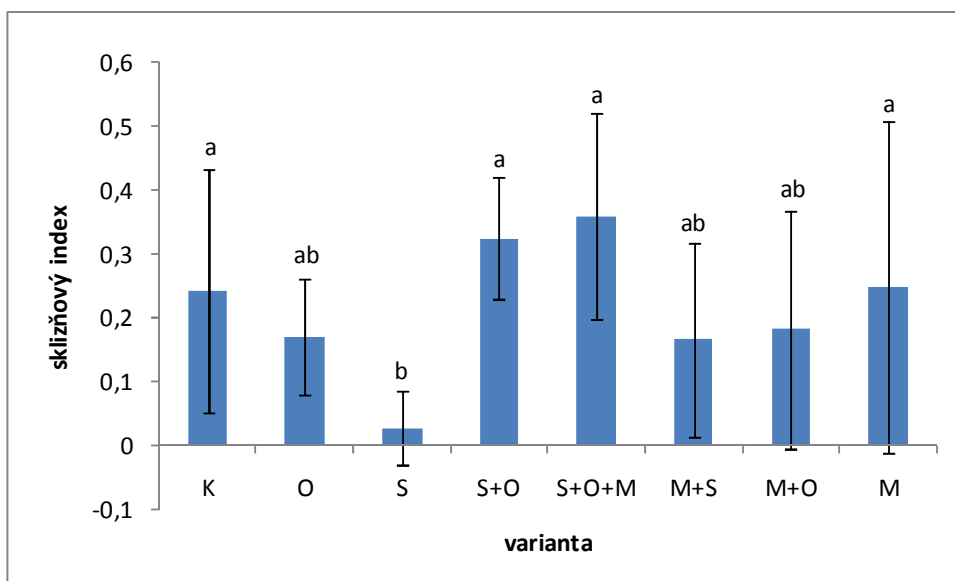
Graf 8: Průměrný počet založených a vykvetlých květů rostlin rajčete (pokus 2); K – kontrolní varianta, O – biomasa značená izotopem ^{15}N , S – saprotrofní houba *Agrocybe* sp., M – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou statisticky významně odlišné, počet vykvetlých květů se průkazně neliší (Tukey-Kramerův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=5$).



Graf 9: Průměrný počet květenství rostlin rajčete (pokus 2); K – kontrolní varianta, O – biomasa značená izotopem ^{15}N , S – saprotrfní houba *Agrocybe* sp., M – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou statisticky významně odlišné (Tukey-Kramerův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=5$).



Graf 10: Průměrná suchá hmotnost 1. plodu a celková hmotnost všech plodů rostlin rajčete (pokus 2); K – kontrolní varianta, O – biomasa značená izotopem ^{15}N , S – saprotrfní houba *Agrocybe* sp., M – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou u daného měření statisticky významně odlišné (1. plod – Tukey-Kramerův test; plody celkem – Kruskal-Wallisův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=5$).

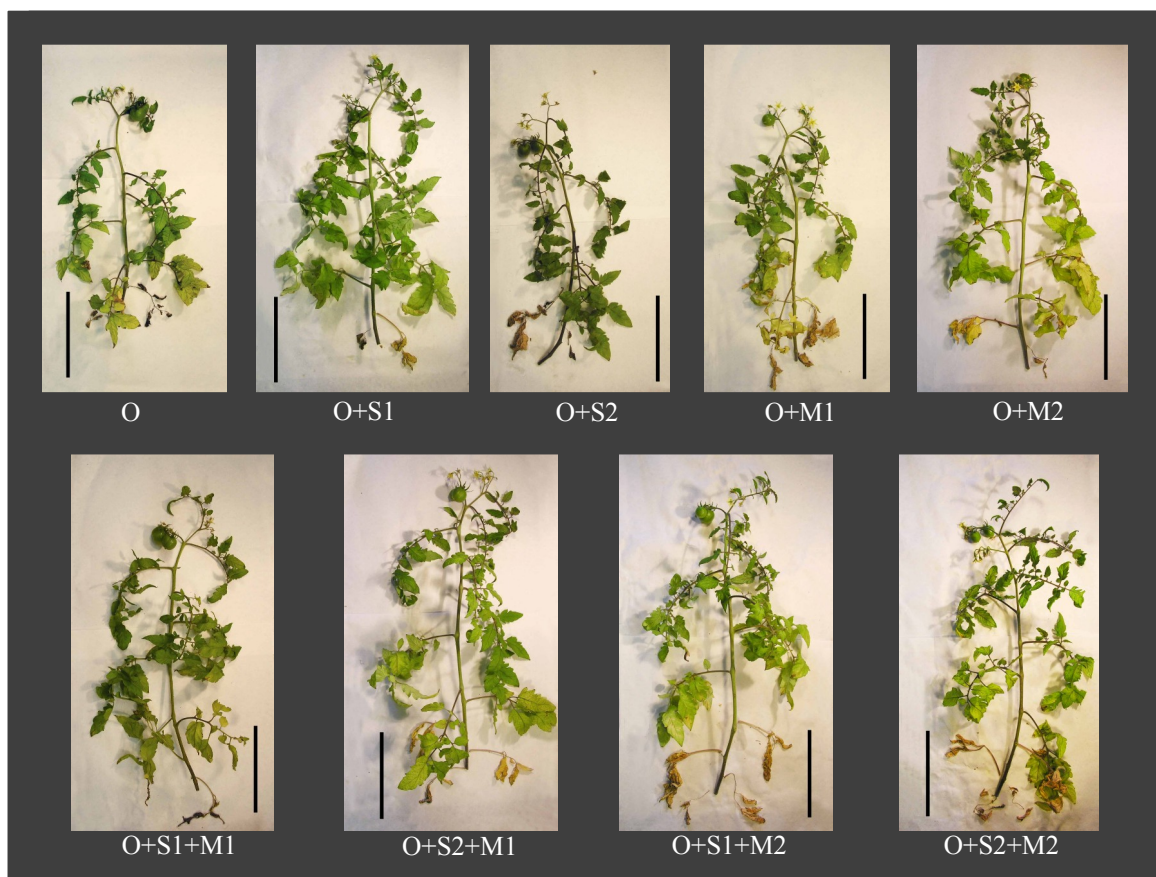


Graf 11: Průměrný sklizňový index rostlin rajčete (pokus 2); K – kontrolní varianta, O – biomasa značená izotopem ^{15}N , S – saprotrofní houba *Agrocybe* sp., M – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou statisticky významně odlišné (Tukey-Kramerův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=5$).

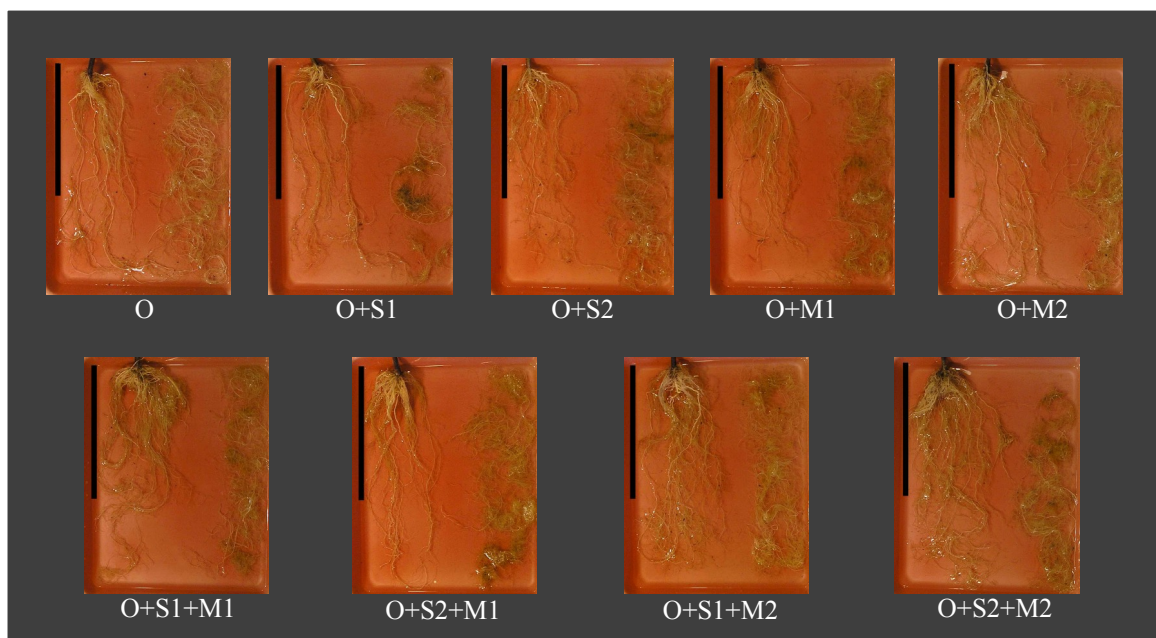
6.3.2 Pokus 4

Jednotlivé varianty různě ošetřených rostlin rajčete se ve většině měřených parametrů průkazně nelišily. Byl pozorován pouze pozitivní vliv inokulace mykorhizními houbami na výšku rostlin v průběhu trvání experimentu.

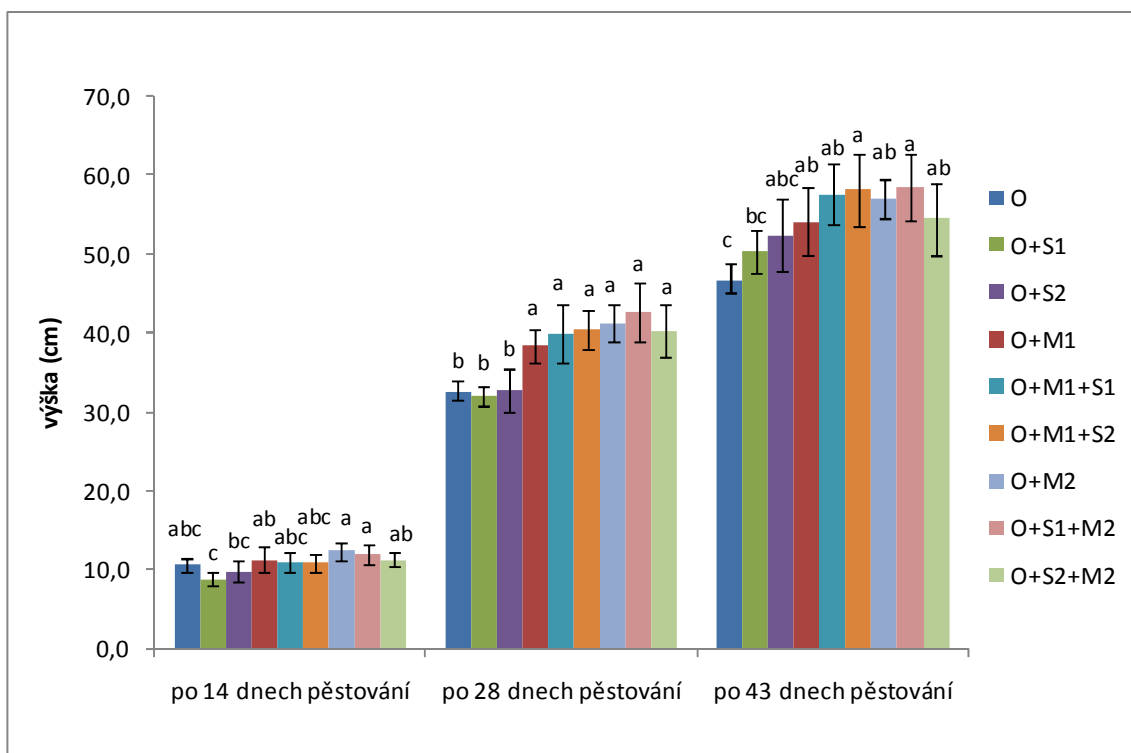
Po 14 dnech pěstování se výška rostlin jednotlivých variant průkazně neodlišovala od kontroly (O), 28 dní od založení experimentu byly všechny varianty, které obsahovaly mykorhizní houbou *G. mosseae* (M1) nebo směs mykorhizních hub (M2), vyšší než kontrola nebo rostliny ošetřené pouze saprotrofními houbami (*T. lanuginosus* – S1; *Gymnopilus* sp. – S2) v přítomnosti organické hmoty (O+S1 a O+S2). Mykorhizní rostliny rajčete byly vyšší v porovnání s kontrolou i po 43 dnech pěstování, ve většině případů se ale už jejich výška nelišila od variant O+S1 a O+S2 (graf 12). Na konci experimentu byl zaznamenán rozdíl v délce prýtu pouze u variant O+S2+M2, O+M2 a O+S1+M2 v porovnání s kontrolou (graf 13). Příklady rostlin z jednotlivých variant jsou zobrazeny na obrázcích 23 a 24. Celková čerstvá hmotnost rostlin rajčete varianty O+S1 byla průkazně vyšší než kontrola, suchá hmotnost se nelišila (data nezobrazena). Jednotlivé varianty nevykazovaly rozdíly v čerstvé ani suché hmotnosti stonku a listů (graf 14, FW nezobrazeny). Průměrná hmotnost kořene varianty O+S1+M2 byla vyšší než u kontroly (graf 14). Celkový počet nodů, počet nodů před prvním založeným květenstvím i listů nebyl rozdílný (data nezobrazena).



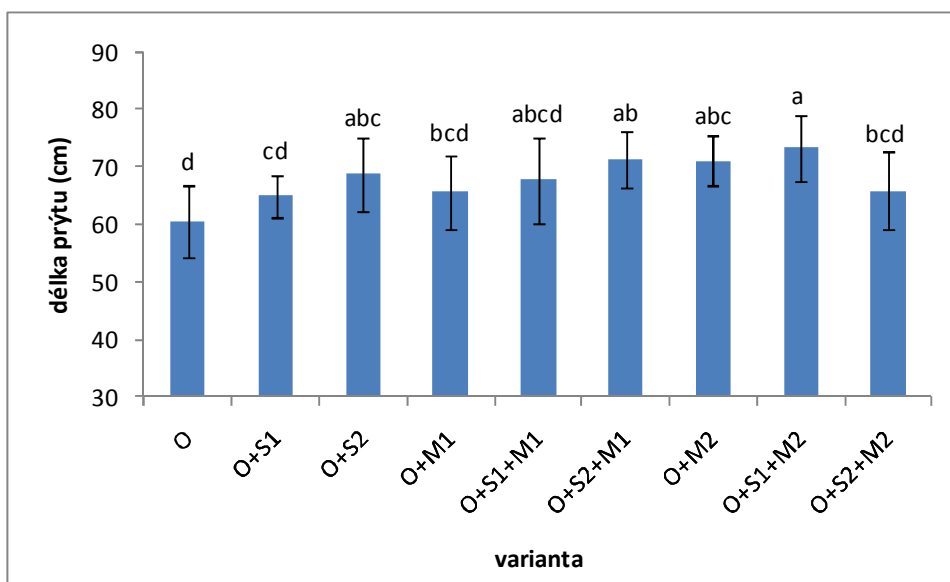
Obr. 23: Nadzemní části rostlin rajčete (pokus 4); O – biomasa značená izotopem ^{15}N (kontrolní varianta), S1 – saprotrófní houba *T. lanuginosus* KGB, S2 – saprotrófní houba *Gymnopilus* sp. IZO 24, M1 – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25 a M2 – směs mykorhizních hub. Zobrazená úsečka odpovídá 30 cm.



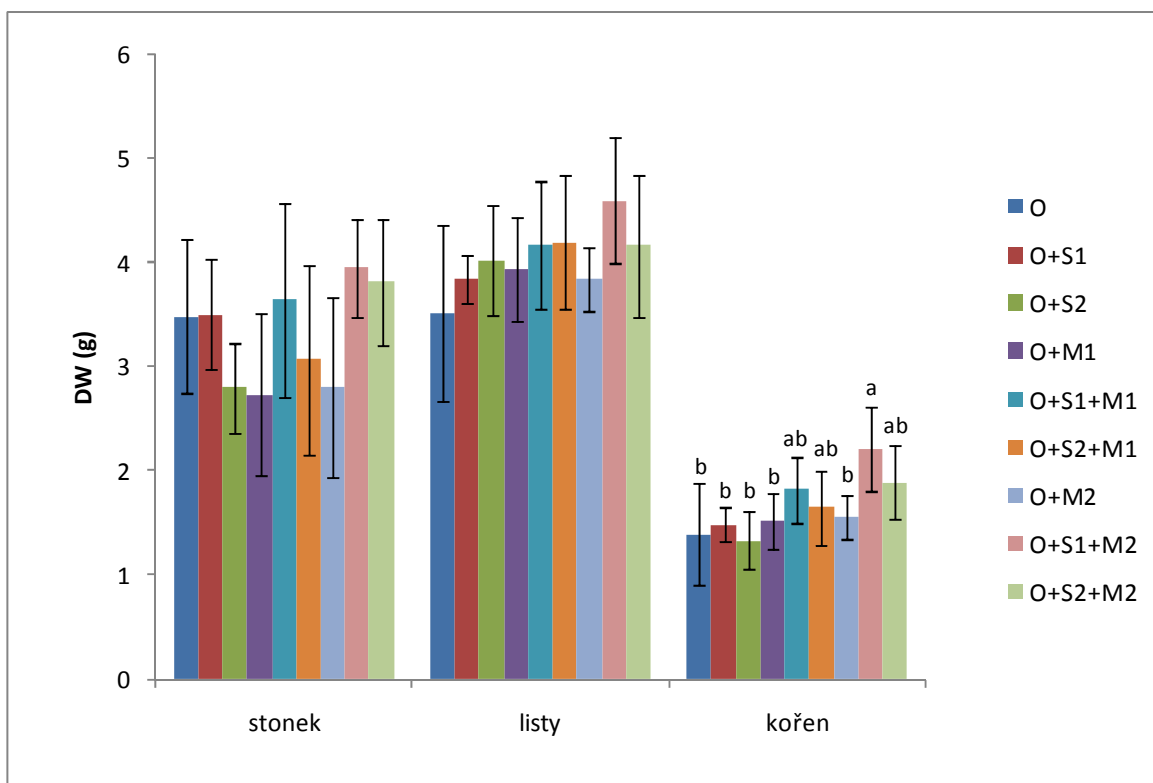
Obr. 24: Kořeny rostlin rajčete (pokus 4); O – biomasa značená izotopem ^{15}N (kontrolní varianta), S1 – saprotrófní houba *T. lanuginosus* KGB, S2 – saprotrófní houba *Gymnopilus* sp. IZO 24, M1 – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25 a M2 – směs mykorhizních hub. Zobrazená úsečka odpovídá 30 cm.



Graf 12: Výška rostlin rajčat (pokus 4) v průběhu trvání experimentu (po 14, 28 a 43 dnech od založení pokusu); O – biomasa značená izotopem ^{15}N (kontrolní varianta), S1 – saprotrófní houba *T. lanuginosus* KGB, S2 – saprotrófní houba *Gymnopilus* sp. IZO 24, M1 – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25, M2 – směs mykorhizních hub). Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou u daného měření statisticky významně odlišné (Tukey-Kramerův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=6$).

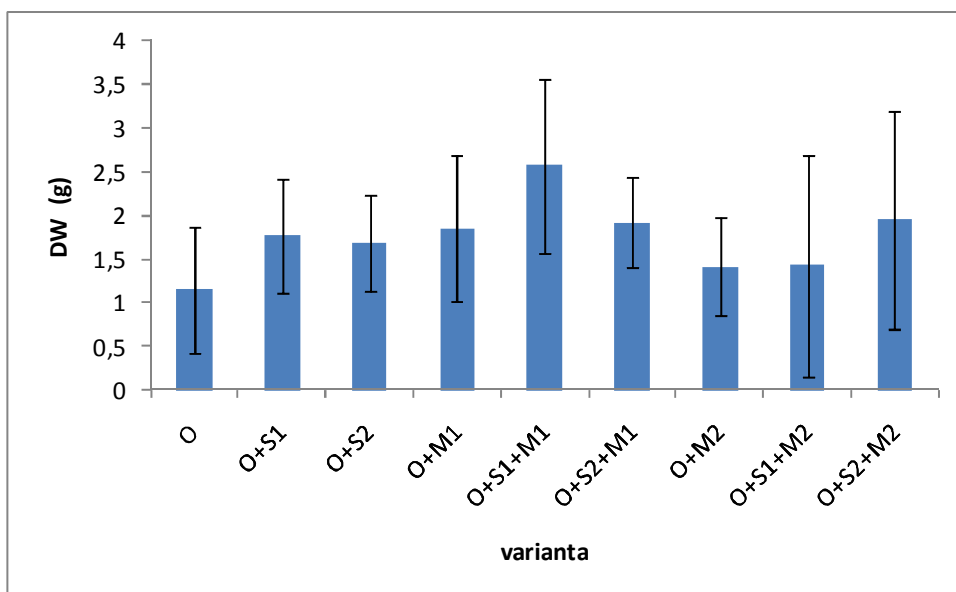


Graf 13: Průměrná délka nadzemní části rostlin rajčete při sklizni (pokus 4); O – biomasa značená izotopem ^{15}N (kontrolní varianta), S1 – saprotrófní houba *T. lanuginosus* KGB, S2 – saprotrófní houba *Gymnopilus* sp. IZO 24, M1 – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25, M2 – směs mykorhizních hub. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou statisticky významně odlišné (Kruskal-Wallisův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=6$).

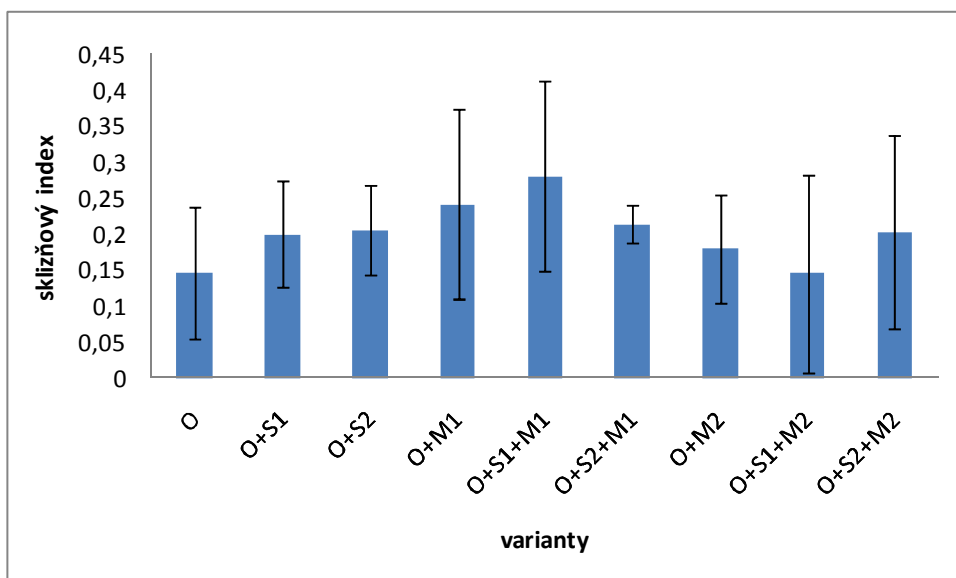


Graf 14: Průměrná suchá hmotnost stonku, listů a kořenu rostlin rajčete (pokus 4); O – biomasa značená izotopem ^{15}N (kontrolní varianta), S1 – saprotrofní houba *T. lanuginosus* KGB, S2 – saprotrofní houba *Gymnopilus* sp. IZO 24, M1 – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25, M2 – směs mykorhizních hub. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou statisticky významně odlišné, suchá hmotnost stonku a listů se průkazně nelišila (Tukey-Kramerův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=6$).

Začátek kvetení, počet květenství, založených i vykvetlých květů, suchá a čerstvá hmotnost květů a počet plodů se u jednotlivých variant nelišil (data nezobrazena). Suchá i čerstvá hmotnost plodů byla v rámci jednotlivých variant velmi variabilní, mezi variantami nebyly žádné průkazné rozdíly. Objevil se pouze trend vyšší suché hmotnosti plodů u varianty O+S1+M1 (graf 15). Podobný trend byl pozorován i v případě sklizňového indexu (graf 16).



Graf 15: Průměrná suchá hmotnost plodů rostlin rajčete (pokus 4); O – biomasa značená izotopem ^{15}N (kontrolní varianta), S1 – saprotrófní houba *T. lanuginosus* KGB, S2 – saprotrófní houba *Gymnopilus* sp. IZO 24, M1 – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25, M2 – směs mykorhizních hub. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Mezi jednotlivými variantami nejsou statisticky významné rozdíly (Tukey-Kramerův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=6$).



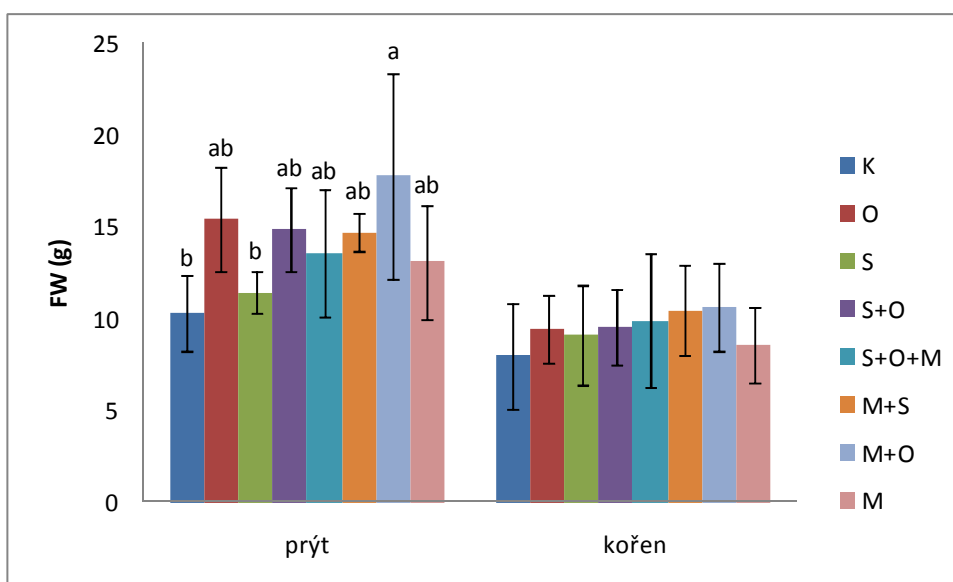
Graf 16: Průměrný sklizňový index rostlin rajčete (pokus 4); O – biomasa značená izotopem ^{15}N (kontrolní varianta), S1 – saprotrófní houba *T. lanuginosus* KGB, S2 – saprotrófní houba *Gymnopilus* sp. IZO 24, M1 – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25, M2 – směs mykorhizních hub. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Mezi jednotlivými variantami nejsou statisticky významné rozdíly (Tukey-Kramerův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=6$).

6.4 Růst rostlin póru

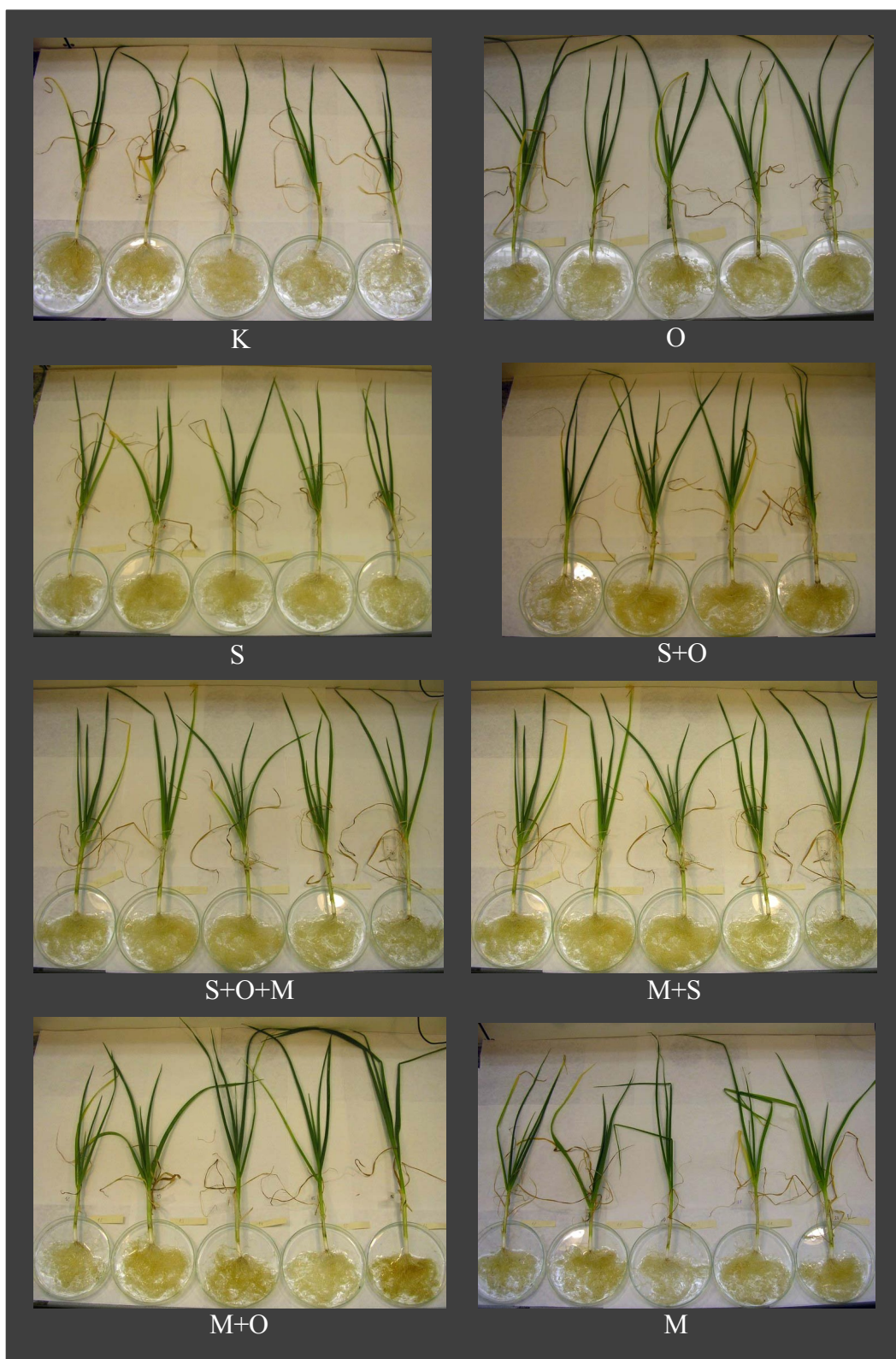
6.4.1 Pokus 3

Při pilotním pokusu nebyly na první pohled patrné rozdíly mezi variantami (obr 25). Po provedení měření se projevil především pozitivní vliv přítomnosti mykorhizních hub a organické hmoty na výnosy rostlin póru. Na rozdíl od pilotního experimentu s rostlinami rajčete (pokus 2) zde nedošlo k poklesu hodnot měřených morfologických parametrů při ošetření pouze saprotrofními houbami.

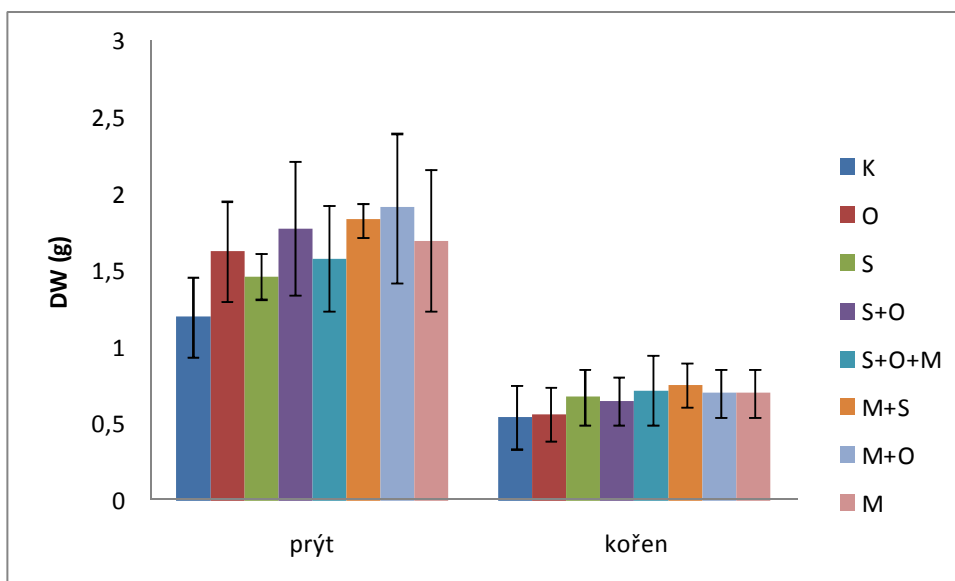
Celková čerstvá ani suchá hmotnost rostlin póru nebyla rozdílná (data nezobrazena). Rostliny póru v přítomnosti mykorhizních hub a organické hmoty (M+O) měly průkazně vyšší čerstvou hmotnost prýtu v porovnání s kontrolou (graf 17), v případě suché hmotnosti prýtu byl u této varianty pozorován pouze trend zvýšení (graf 18). Varianty M+O a S+O vykazovaly také signifikantně vyšší obvod prýtu u kořene než kontrola, obvod prýtu 3 cm nad kořenem se nelišil (graf 19). Délka nadzemní části rostlin póru nebyla rozdílná (data nezobrazena). Varianty obsahující dodanou biomasu (O, S+O, S+O+M a M+O) měly statisticky významně vyšší počet neodumřených listů než kontrolní rostliny (graf 20), signifikantní rozdíly v celkovém počtu listů nebyly mezi jednotlivými variantami pozorovány (data nezobrazena). Délka prvního živého listu, počet cévních svazků i jeho šířka a tloušťka ve vzdálenosti 5 cm od pochvy byly proměnlivé a mezi variantami se nelišily (data nezobrazena).



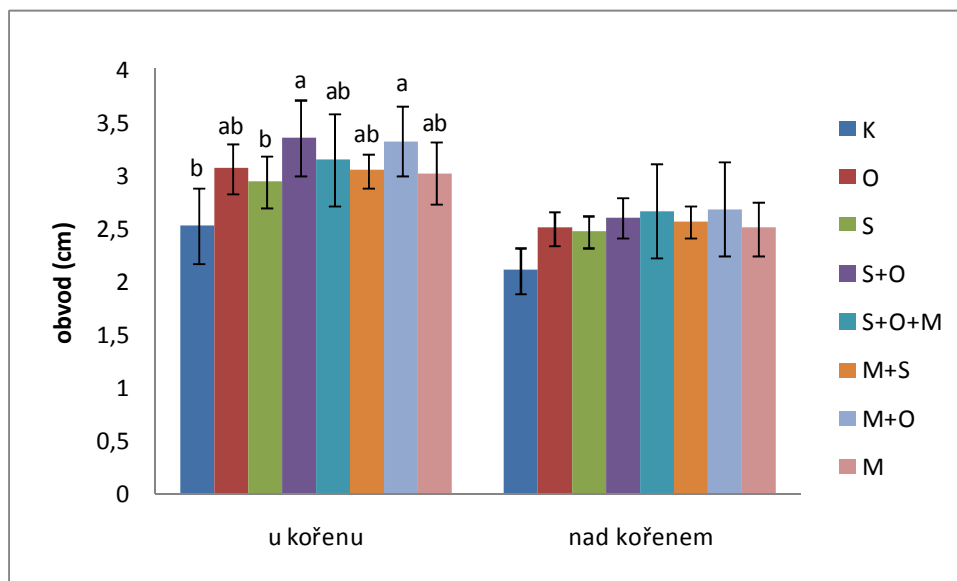
Graf 17: Průměrná čerstvá hmotnost prýtu a kořene rostlin póru (pokus 3); K – kontrolní varianta, O – biomasa značená izotopem ^{15}N , S – saprotrofní houba *Agrocybe* sp., M – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou statisticky významně odlišné, čerstvá hmotnost kořene se průkazně nelišila (Tukey-Kramerův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=5$).



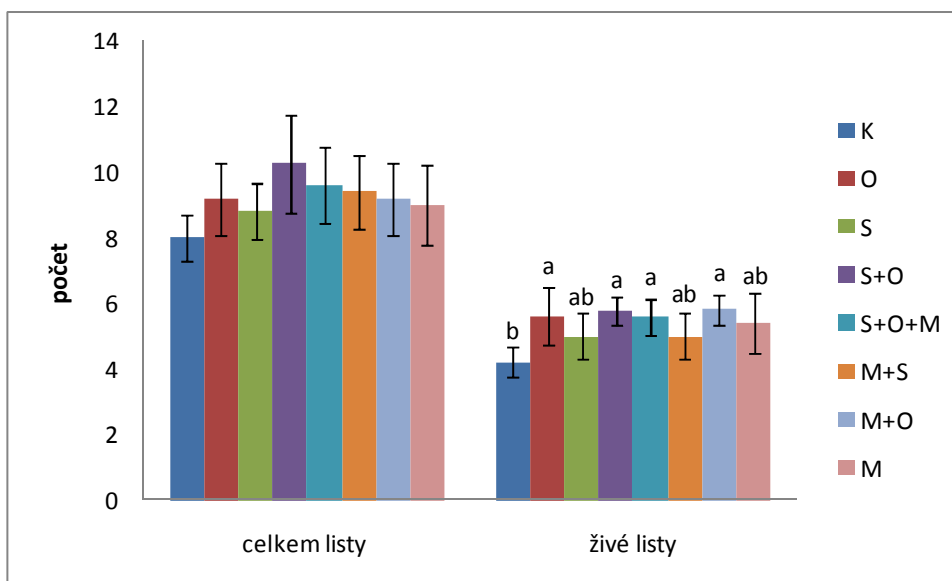
Obr. 25: Rostliny póru po ukončení experimentu; K – kontrolní varianta, O – biomasa značená izotopem ^{15}N , S – saprotrófní houba *Agrocybe* sp., M – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25.



Graf 18: Průměrná suchá hmotnost prýtu a kořene rostlin póru (pokus 3); K – kontrolní varianta, O – biomasa značená izotopem ^{15}N , S – saprotrfní houba *Agrocybe* sp., M – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Mezi jednotlivými variantami nejsou statisticky významné rozdíly (Tukey-Kramerův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=5$).



Graf 19: Průměrný obvod prýtu rostlin póru u kořene a 3 cm nad kořenem (pokus 3); K – kontrolní varianta, O – biomasa značená izotopem ^{15}N , S – saprotrfní houba *Agrocybe* sp., M – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou statisticky významně odlišné, obvod prýtu nad kořenem se průkazně neliší (Tukey-Kramerův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=5$).



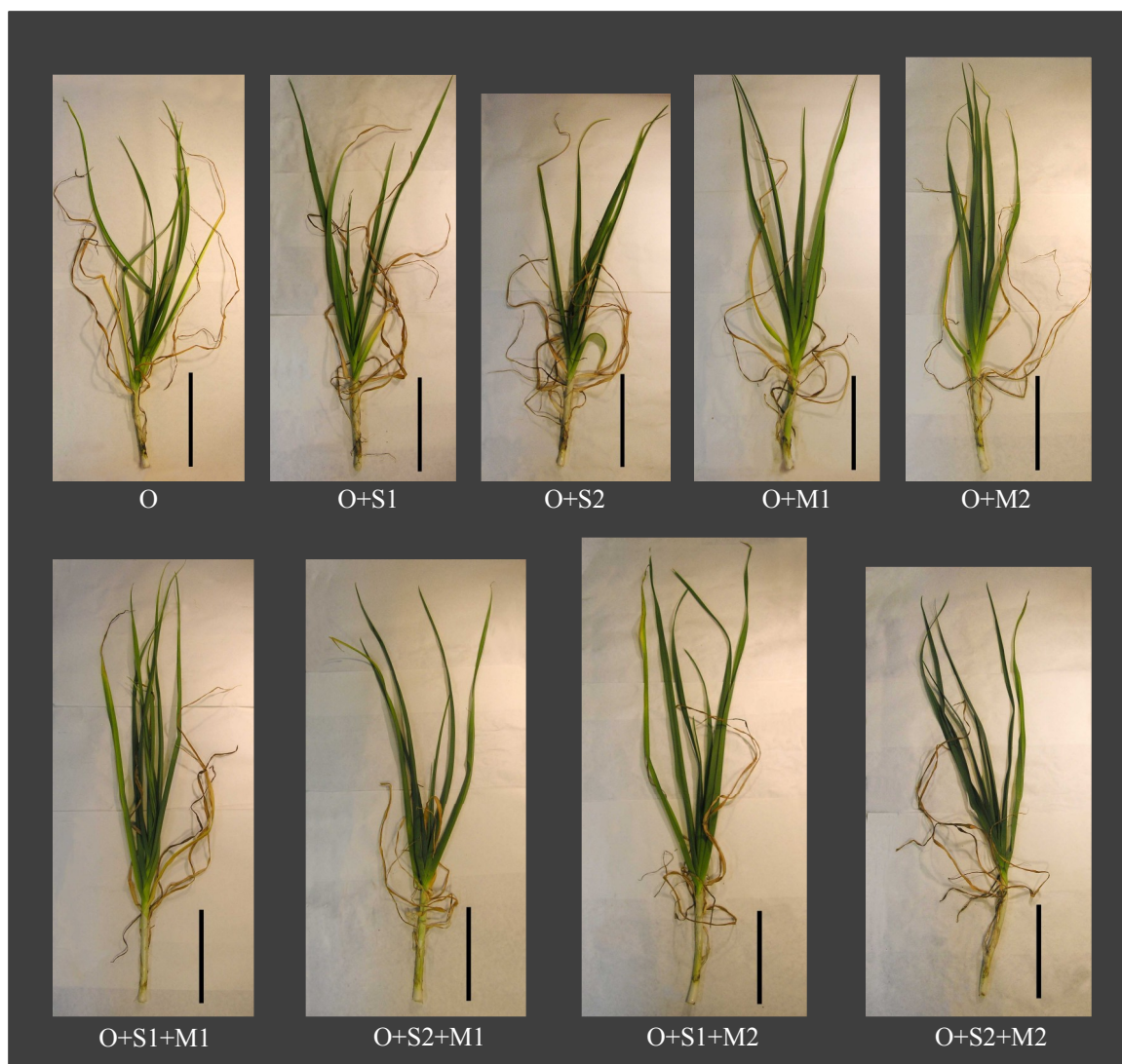
Graf 20: Průměrný celkový počet listů a počet neodumřelých listů rostlin póru (pokus 3); K – kontrolní varianta, O – biomasa značená izotopem ^{15}N , S – saprotrofní houba *Agrocybe* sp., M – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou u daného měření statisticky významně odlišné, celkový počet listů se průkazně neliší (Tukey-Kramerův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=5$).

6.4.2 Pokus 5

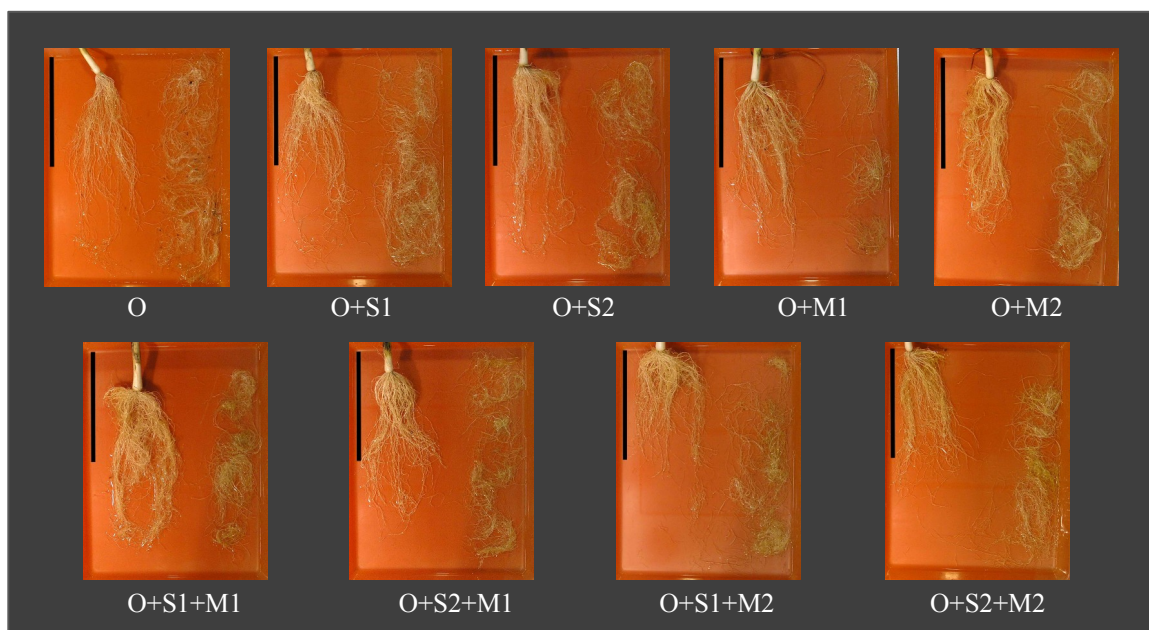
Morfologické parametry rostlin póru byly pozitivně ovlivněny za přítomnosti organické hmoty, saprotrofních hub *T. lanuginosus* a mykorhizních hub *G. mosseae* nebo směsi mykorhizních hub (O+S1+M1 a O+S1+M2) a v některých případech i při duální inokulaci mykorhizními houbami *G. mosseae* a saprotrofními houbami *Gymnopilus* sp. (O+S2+M1). Kombinace směsi mykorhizních hub a *Gymnopilus* sp. růst rostlin póru neovlivňovala.

Zástupci jednotlivých variant jsou znázorněni na obrázcích 26 a 27. Varianty obsahující organickou hmotu, saprotrofní houby *T. lanuginosus* KGB a mykorhizní houby *G. mosseae* nebo směs mykorhizních hub (O+S1+M1 a O+S1+M2) vykazovaly signifikantně vyšší celkovou čerstvou hmotnost (data nezobrazena). Rozdíly v celkové suché hmotnosti nebyly průkazné, ale projevil se trend zvýšení u výše jmenovaných variant (data nezobrazena). Varianty O+S1+M1, O+S1+M2, O+S2+M1 a O+M2 měly větší čerstvou hmotnost prýtu než kontrola (data nezobrazena), průměrné hodnoty suché hmotnosti byly statisticky významně vyšší (o více než 30 %) u variant, které obsahovaly mykorhizní houby a saprotrofa *T. lanuginosus* (O+S1+M1 a O+S1+M2; graf 21). Pro rostliny z varianty O+S2+M2 byl naopak patrný trend snížení suché hmotnosti prýtu (graf 21). Hmotnosti kořenů se mezi jednotlivými variantami nelišily (graf 21). U rostlin póru ošetřených mykorhizními houbami *G. mosseae* a saprotrofními houbami *Gymnopilus* sp.

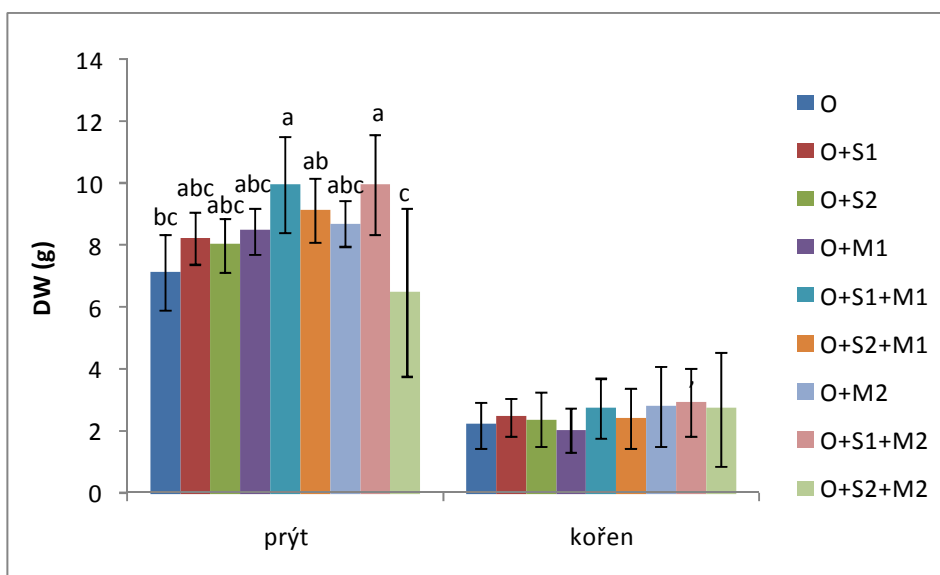
(O+S2+M1) byl pozorován signifikantně větší obvod prýtu u kořene (graf 22). Varianta O+S1+M1 vykazovala vyšší celkový počet listů i počet živých listů (graf 23). 9. list variant O+S2+M1 a O+S1+M2 byl průkazně delší v porovnání s kontrolou (graf 24), šířka tohoto listu byla vyšší u variant O+S1 a O+S1+M2 (graf 25). Výška rostlin nebyla mezi variantami odlišná.



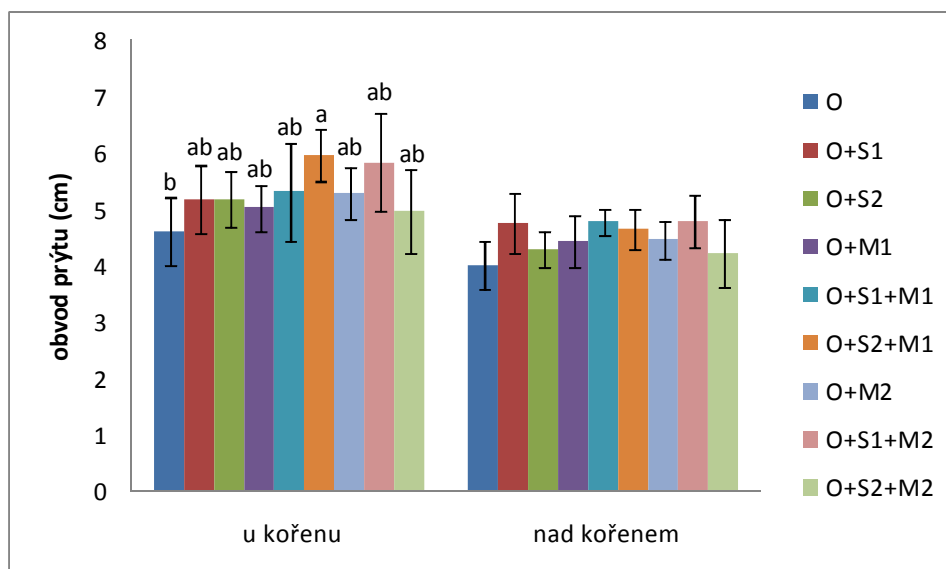
Obr. 26: Nadzemní části jednotlivých variant rostlin póru (pokus 5): O – biomasa značená izotopem ^{15}N (kontrolní varianta), S1 – saprotrfní houba *T. lanuginosus* KGB, S2 – saprotrfní houba *Gymnopilus* sp. IZO 24, M1 – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25 a M2 – směs mykorhizních hub. Zobrazená úsečka odpovídá 30 cm.



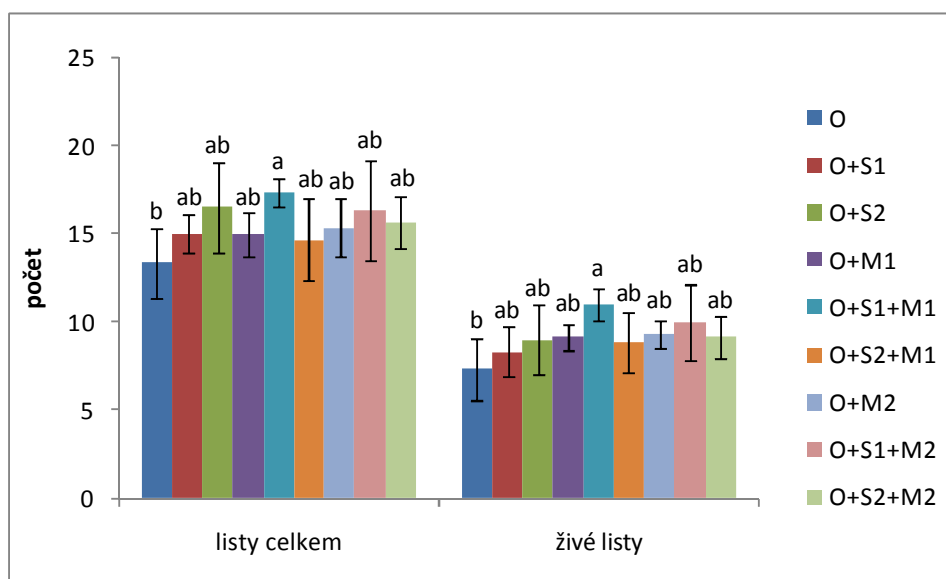
Obr. 27: Kořeny póru jednotlivých variant (pokus 5): O – biomasa značená izotopem ^{15}N (kontrolní varianta), S1 – saprotrófní houba *T. lanuginosus* KGB, S2 – saprotrófní houba *Gymnopilus* sp. IZO 24, M1 – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25 a M2 – směs mykorhizních hub. Zobrazená úsečka odpovídá 30 cm.



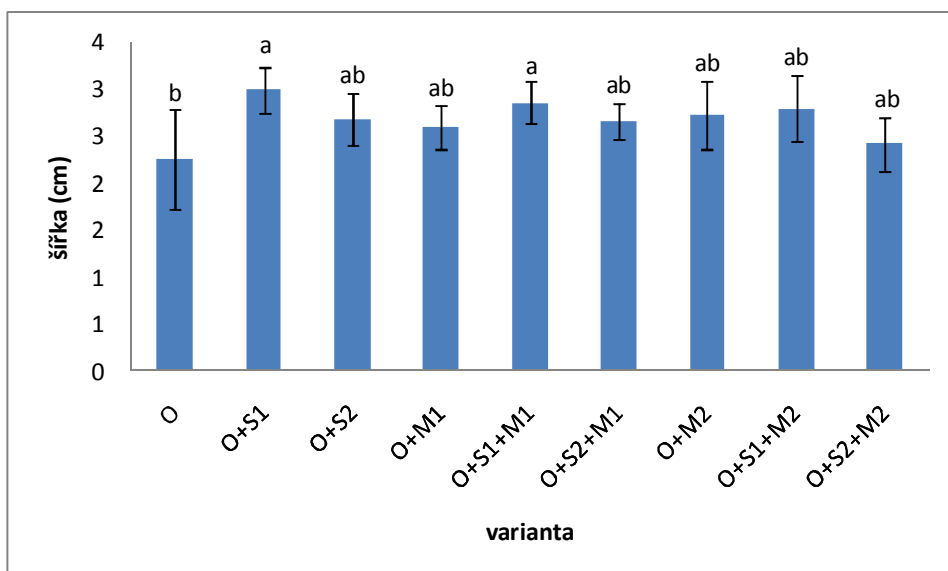
Graf 21: Průměrná suchá hmotnost prýtu a kořene póru jednotlivých variant (pokus 5); O – biomasa značená izotopem ^{15}N (kontrolní varianta), S1 – saprotrófní houba *T. lanuginosus* KGB, S2 – saprotrófní houba *Gymnopilus* sp. IZO 24, M1 – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25, M2 – směs mykorhizních hub. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou u dané části rostliny statisticky významně odlišné, suchá hmotnost kořene se průkazně nelišila (prýt – Tukey-Kramerův test; kořen – Kruskal-Wallisův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=6$).



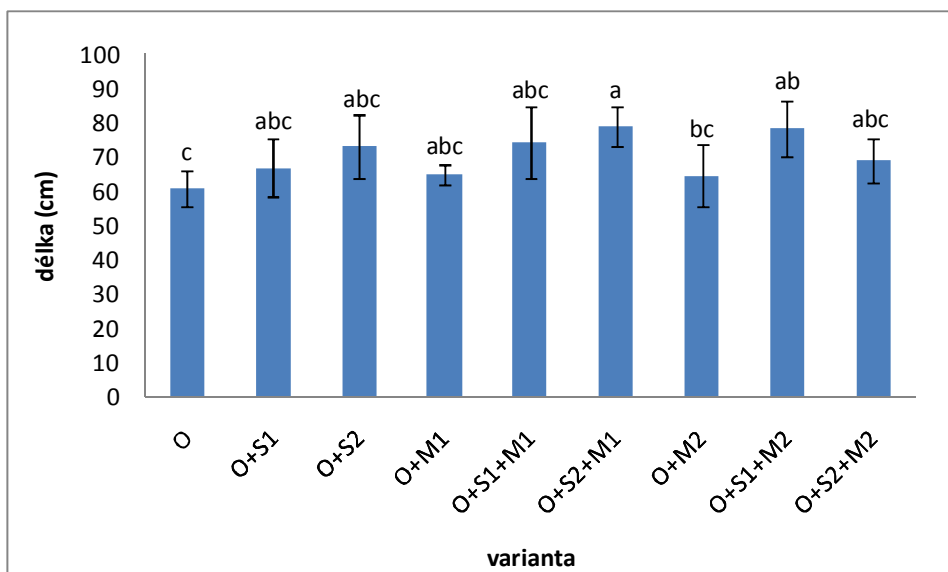
Graf 22: Průměrný obvod prýtu pórů u kořene a 3 cm nad kořenem (pokus 5); O – biomasa značená izotopem ^{15}N (kontrolní varianta), S1 – saprotrofní houba *T. lanuginosus* KGB, S2 – saprotrofní houba *Gymnopilus* sp. IZO 24, M1 – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25, M2 – směs mykorhizních hub. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou u daného měření statisticky významně odlišné, obvod prýtu nad kořenem se průkazně neliší (Tukey-Kramerův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=6$).



Graf 23: Průměrný celkový počet listů a počet živých listů rostlin pórů (pokus 5); O – biomasa značená izotopem ^{15}N (kontrolní varianta), S1 – saprotrofní houba *T. lanuginosus* KGB, S2 – saprotrofní houba *Gymnopilus* sp. IZO 24, M1 – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25, M2 – směs mykorhizních hub. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou u daného měření statisticky významně odlišné (Tukey-Kramerův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=6$).



Graf 24: Průměrná šířka přibližně 9. listu rostlin póru (pokus 5); O – biomasa značená izotopem ^{15}N (kontrolní varianta), S1 – saprotrfní houba *T. lanuginosus* KGB, S2 – saprotrfní houba *Gymnopilus* sp. IZO 24, M1 – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25, M2 – směs mykorhizních hub. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou statisticky významně odlišné (Tukey-Kramerův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=6$).



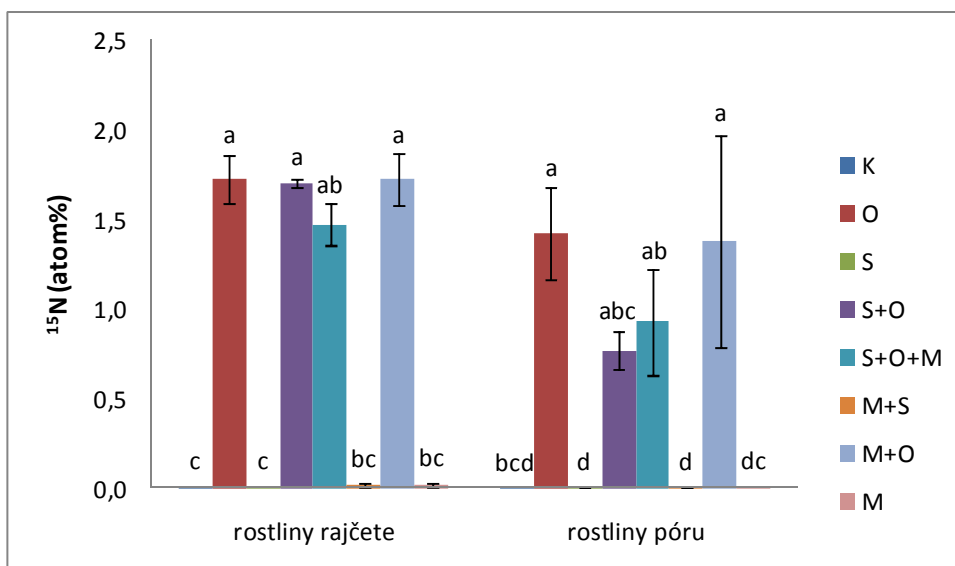
Graf 24: Průměrná délka přibližně 9. listu rostlin póru (pokus 5); O – biomasa značená izotopem ^{15}N (kontrolní varianta), S1 – saprotrfní houba *T. lanuginosus* KGB, S2 – saprotrfní houba *Gymnopilus* sp. IZO 24, M1 – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25, M2 – směs mykorhizních hub). Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou statisticky významně odlišné (Tukey-Kramerův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=6$).

6.5 Obsah ^{15}N , celkového dusíku a ^{13}C

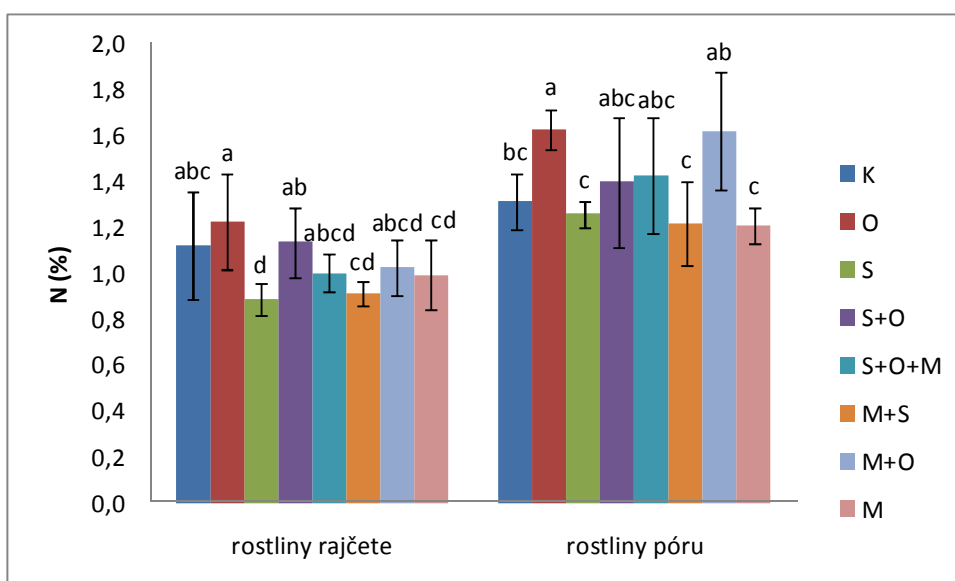
Během pilotních experimentů (pokusy 2 a 3, tab. 1) se obohacení izotopem ^{15}N mezi jednotlivými variantami s dodanou značenou organickou hmotou průkazně nelišilo,

obohacení variant bez značené biomasy po odečtení pozadí bylo nulové (graf 25). Je zřejmé, že rostliny získávaly izotop ^{15}N , i když nebyla organická hmota štěpena dodanými saprotrfními houbami a v systému nebyly přítomné mykorhizní houby, které by dusík transportovaly do rostlin z kompartmentu pro ně nepřístupného. Dusík se nejspíše ke kořenům rostlin přesouval pomocí difúze nebo hromadného toku. Přidaná organická hmota průkazně nezvýšila koncentraci dusíku v listech rajčete (graf 26), celkový obsah dusíku v listech byl ale vyšší ve variantě S+O a u ostatních variant s dodanou biomasou byl pozorován trend zvýšení (graf 27). V přítomnosti pouze saprotrfních hub obsahovaly listy rajčete signifikantně nižší koncentraci dusíku (graf 26). Na druhou stranu dodání biomasy (bez dalších mikroorganismů) pozitivně ovlivnilo koncentraci dusíku v listech póru, zatímco přítomnost dodané organické hmoty současně s dalšími mikroorganismy vyvolala pouze trend zvýšení koncentrace dusíku (graf 26). Celkový obsah dusíku v listech póru byl průkazně vyšší ve všech variantách kromě těch, které byly ošetřeny pouze saprotrfní nebo pouze mykorhizní houbou (graf 27).

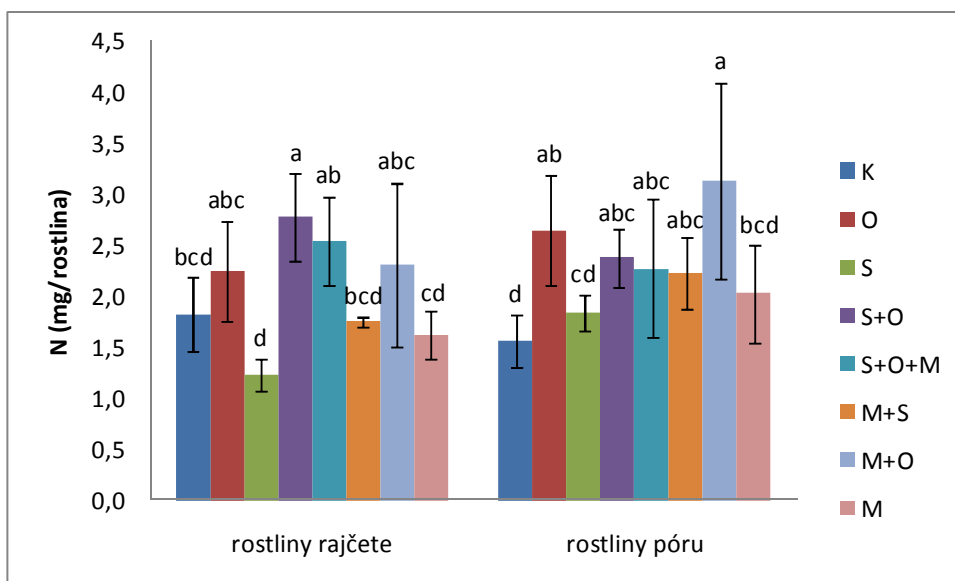
Po upravení uspořádání pokusu (pokusy 4 a 5) vykazovaly rostliny rajčete ošetřené současně saprotrfními houbami a mykorhizními houbami nebo pouze saprotrfními houbami průkazně vyšší obohacení plodů izotopem ^{15}N v porovnání s kontrolou (O). Na druhou stranu množství ^{15}N nebylo ovlivněno u variant obsahující pouze mykorhizní houby (graf 28). Je tedy patrné, že se izotop ^{15}N uvolněný z organické hmoty přenášel ke kořenům rostlin i jinak než prostřednictvím mykorhizních hub, na rozdíl od předchozích pokusů (pokusy 2 a 3) zde bylo pozorováno, že přítomnost saprotrfních hub zvyšuje množství ^{15}N v rostlinách rajčete. Listy póru inokulované současně saprotrfní houbou *T. lanuginosus* a mykorhizními houbami (*G. mosseae* nebo směsí mykorhizních hub) měly o více než 50 % vyšší obohacení izotopem ^{15}N než kontrola, mykorhizní houby se zřejmě podílely na transportu dusíku do rostlin (graf 28). Určitý trend zvýšení obohacení tímto izotopem byl pozorovatelný i v ostatních variantách s dodanými půdními mikroorganismy (graf 28). I když byly pozorovány rozdíly mezi příjmem dusíku ^{15}N z organických zdrojů, celková koncentrace dusíku v rostlinách rajčete i póru průkazně ovlivněna nebyla. V plodech rajčete se dokonce u varianty O+S1+M1, která v porovnání s kontrolou obsahovala více ^{15}N , objevil trend snížení koncentrace dusíku (graf 29). U rostlin rajčete se nelišil ani celkový obsah dusíku v plodech, zatímco listy rostlin póru, které byly ošetřeny kombinací mikroorganismů (kromě varianty O+S2+M2), vykazovaly vyšší obsah dusíku (graf 30).



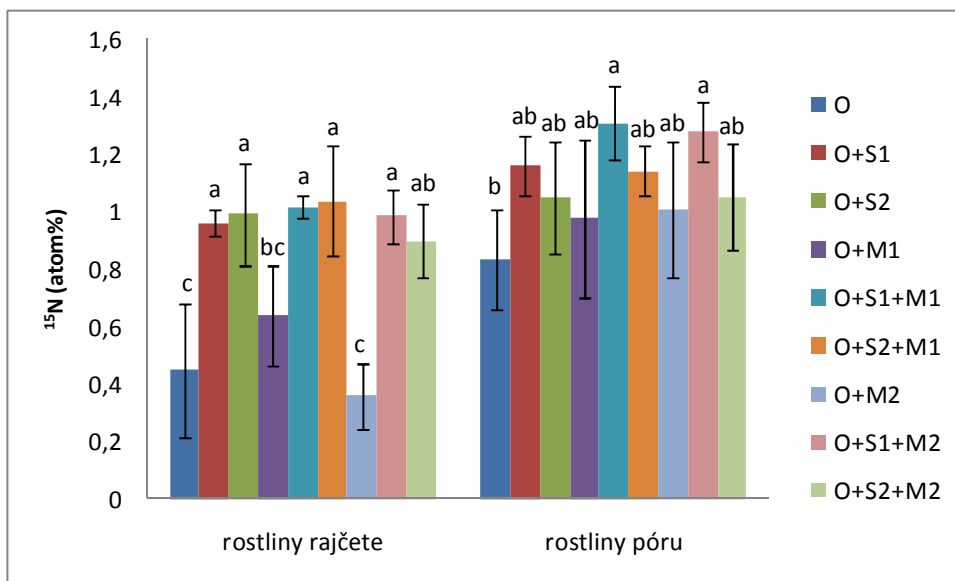
Graf 25: Průměrné obohacení listů rajčete a póru stabilním izotopem ^{15}N (pokusy 2 a 3); K – kontrolní varianta, O – biomasa značená izotopem ^{15}N , S – saprotrfní houba *Agrocybe* sp., M – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou u dané rostliny statisticky významně odlišné (Kruskal-Wallisův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=5$).



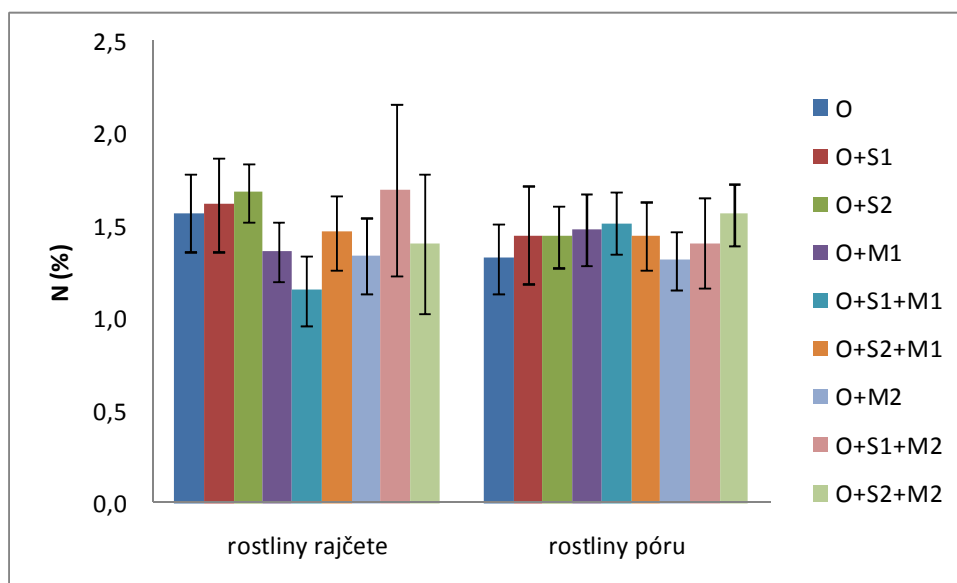
Graf 26: Průměrná koncentrace dusíku v listech rajčete a póru (pokusy 2 a 3); K – kontrolní varianta, O – biomasa značená izotopem ^{15}N , S – saprotrfní houba *Agrocybe* sp., M – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou u dané rostliny statisticky významně odlišné (Kruskal-Wallisův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=5$).



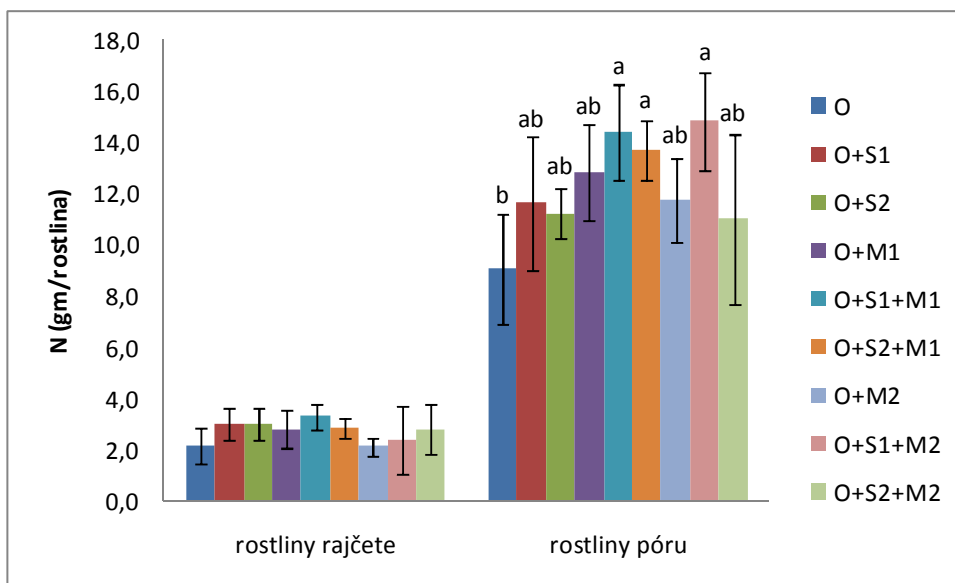
Graf 27: Průměrný obsah celkového dusíku v listech rajčete a póru (pokusy 2 a 3); K – kontrolní varianta, O – biomasa značená izotopem ^{15}N , S – saprotrófní houba *Agroclybe* sp., M – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou u dané rostliny statisticky významně odlišné (rostliny rajčete – Tukey-Kramerův test; rostliny póru – Kruskal-Wallisův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=5$).



Graf 28: Průměrné obohacení plodů rajčete a listů póru stabilním izotopem ^{15}N (pokusy 4 a 5); O – biomasa značená izotopem ^{15}N (kontrolní varianta), S1 – saprotrófní houba *T. lanuginosus* KGB, S2 – saprotrófní houba *Gymnopilus* sp. IZO 24, M1 – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25, M2 – směs mykorhizních hub. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou u dané rostliny statisticky významně odlišné (Tukey-Kramerův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=5$).

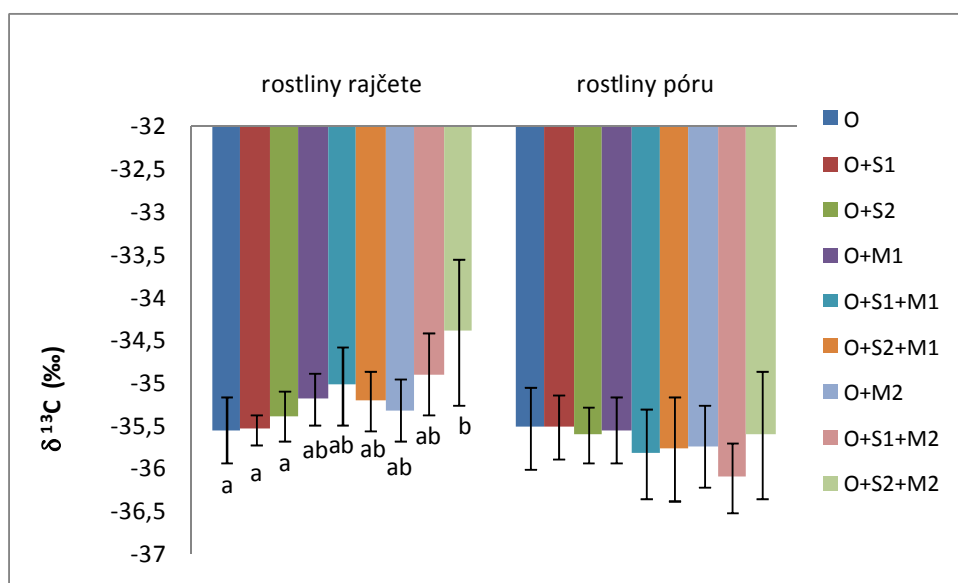


Graf 29: Průměrná koncentrace dusíku v plodech rajčete a listech póru (pokusy 4 a 5); O – biomasa značená izotopem ^{15}N (kontrolní varianta), S1 – saprotrofní houba *T. lanuginosus* KGB, S2 – saprotrofní houba *Gymnopilus* sp. IZO 24, M1 – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25, M2 – směs mykorhizních hub. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Mezi jednotlivými variantami nejsou statisticky významné rozdíly (Tukey-Kramerův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=5$).



Graf 30: Průměrný celkový obsah dusíku v plodech rajčete a listech póru (pokusy 4 a 5); O – biomasa značená izotopem ^{15}N (kontrolní varianta), S1 – saprotrofní houba *T. lanuginosus* KGB, S2 – saprotrofní houba *Gymnopilus* sp. IZO 24, M1 – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25, M2 – směs mykorhizních hub. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou u dané rostliny statisticky významně odlišné, celkový obsah dusíku se v plodech rajčete průkazně neliší (Tukey-Kramerův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=5$).

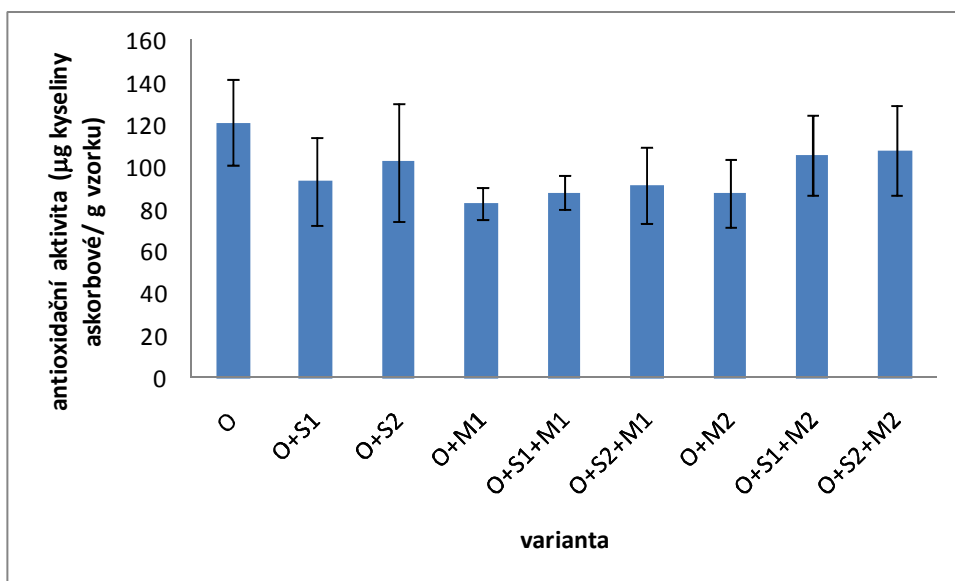
Vyšší přirozený výskyt izotopu ^{13}C ($\delta^{13}\text{C}$), který by koreloval i s vyšším obohacením ^{15}N , by mohl vypovídat o příjmu a transportu dusíku v organické formě do rostlin. (Dodaná organická hmota je C4 rostlina, proto je v porovnání s C3 rajčetem více obohacená izotopem ^{13}C). V pilotních experimentech (pokusy 2 a 3) se $\delta^{13}\text{C}$ u jednotlivých variant nelišila od kontroly (data nezobrazena). $\delta^{13}\text{C}$ nebyla ovlivněna ani v následujícím experimentu s pórem (pokus 5), na druhou stranu ale došlo k jejímu zvýšení v plodech rostlin rajčete, které byly pěstovány v přítomnosti saprotrfních hub *Gymnopilus* sp. a směsi mykorhizních hub (graf 31), toto zvýšení ale nekorelovalo s obohacením ^{15}N ($\alpha=0,05$).



Graf 31: Průměrný přirozený výskyt izotopu ^{13}C v plodech rajčete a listech póru (pokusy 4 a 5); O – biomasa značená izotopem ^{15}N (kontrolní varianta), S1 – saprotrfní houba *T. lanuginosus* KGB, S2 – saprotrfní houba *Gymnopilus* sp. IZO 24, M1 – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25, M2 – směs mykorhizních hub. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Sloupce označené různými písmeny jsou u dané rostliny statisticky významně odlišné, přirozený výskyt izotopu ^{13}C nebyl u rostlin póru průkazně odlišný (Tukey-Kramerův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=5$).

6.6 Antioxidační aktivita

Jednotlivé varianty póru nevykazovaly průkazné rozdíly v antioxidační kapacitě. Oproti očekávanému nárůstu antioxidační kapacity u mykorhizních variant byl spíše v některých případech pozorován trend snížení (graf 32).



Graf 32: Průměrná antioxidační aktivita v nadzemní části pórů (pokus 5); O – biomasa značená izotopem ^{15}N (kontrolní varianta), S1 – saprotrófní houba *T. lanuginosus* KGB, S2 – saprotrófní houba *Gymnopilus* sp. IZO 24, M1 – mykorhizní houba *G. mosseae* BEG25, M2 – směs mykorhizních hub. Úsečky znázorňují střední chybu průměru. Mezi jednotlivými variantami nejsou statisticky významné rozdíly (Tukey-Kramerův test; hladina pravděpodobnosti: $p=0,05$, $n=5$).

6.7 Shrnutí výsledků

V pilotním experimentu (pokus 2) byl růst rostlin rajčete pozitivně ovlivněn při duální inokulaci saprotrófními i mykorhizními houbami (S+O+M) nebo pouze saprotrófními houbami (S+O) za přítomnosti dodané rostlinné biomasy. Rostliny z těchto variant vykazovaly trend zvýšení výnosů. Na druhou stranu přítomnost mikroorganismů nezvyšovala příjem dusíku (^{15}N) z dodaných organických zdrojů. Během pilotního pokusu (pokus 3) byly rostliny pórů pozitivně ovlivněny mykorhizní houbou *G. mosseae* a dodanou organickou hmotou. Půdní mikroorganismy podobně jako u pilotního pokusu s rostlinami rajčete průkazně nezvyšovaly příjem dusíku (^{15}N) z přidané biomasy.

Rostliny rajčete sledované v následujícím roce (pokus 4), které byly ošetřeny saprotrófními houbami (*T. lanuginosus* nebo *Gymnopilus* sp.) nebo saprotrófními a mykorhizními houbami (*G. mosseae* nebo směs AM hub) zároveň, získaly více ^{15}N ze značené biomasy. Celkový obsah dusíku v plodech rajčete ale ovlivněn nebyl. Na rozdíl od pilotního experimentu zde nebyly pozorovány průkazné rozdíly v růstových parametrech rostlin (kromě výšky) mezi kontrolou (O) a variantami, které byly ošetřeny půdními mikroorganismy. U rostlin inokulovaných saprotrófní houbou *T. lanuginosus* a mykorhizní houbou *G. mosseae* se objevil pouze trend zvýšení suché hmotnosti plodů.

Rostliny póru (pokus 5) při inokulaci saprotrfnní houbou *T. lanuginosus* a mykorhizní houbou *G. mosseae* nebo směsí mykorhizních hub za přítomnosti dodané organické hmoty vykazovaly statisticky významně vyšší růst, tedy i výnosy. U těchto variant byl pozorován i průkazně větší transport dusíku ^{15}N z organického zdroje a celkový obsah dusíku v listech.

U experimentů provedených v druhém roce (pokus 4 a 5) bylo patrné, že použité saprotrfnní houby působily na výnosy odlišně, pozitivní růstová odpověď rostlin byla patrná hlavně při inokulaci saprotrfnní houbou *T. lanuginosus*.

Ve všech experimentech byl pozorován pozitivní vliv nebo alespoň trend zvýšení výnosů u variant ošetřených experimentálními půdními mikroorganismy, především kombinací saprotrfnních a mykorhizních hub. V některých případech došlo ke zvýšení příjmu ^{15}N z organické hmoty za přítomnosti saprotrfnních a mykorhizních hub i celkového obsahu dusíku, koncentrace dusíku ve sledovaných částech rostliny se nezvýšila. Růst rostlin byl zřejmě ovlivněn prostřednictvím jiných mechanismů (mimo jiné možná zvýšením příjmu fosforu mykorhizními rostlinami).

7 Diskuze

7.1 Mykorhizní kolonizace

Mykorhizní kolonizace kořenů póru i rajčete byla v prvním roce pěstování (pokusy 2 a 3, tab. 1) nízká a velmi variabilní v rámci jednotlivých variant (graf 1), pravděpodobně protože nebylo mykorhizní inokulum aplikováno do bezprostřední blízkosti kořenů. V experimentech provedených v následujícím roce (pokusy 4 a 5), kdy bylo inokulum zamícháno do celého květináče kromě dózy, jsme pozorovali vyšší kolonizaci kořenů rostlin mykorhizními houbami (graf 2). Více než dvojnásobná míra kolonizace kořenů rostlin póru v porovnání s rostlinami rajčete je patrně důsledkem především rozdílného trvání experimentů a různé afinity obou druhů k mykorhize. Zvyšování kolonizace kořenů póru v závislosti na době trvání experimentu pozorovali například Schliemann et al. (2008). Kolonizace kořenů rajčete ani póru nebyla změněna přidáním organické hmoty, zatímco ve studiích autorů Gryndler et al. (2009) nebo Hodge a Fitter (2010) její přítomnost kolonizaci rostlin zvýšila. Naopak přidání obilných otrub kolonizaci kořenů snížilo (Ravnskov et al., 2006). Ani saprotrófní houby nebo složení mykorhizního inokula nemělo průkazný vliv na kolonizaci kořenů póru (pokusy 3 a 5) a neovlivnilo ani kolonizaci kořenů rajčete (pokus 2) v prvním roce pěstování. Naopak v pokusu provedeném následující rok mykorhizní houba *G. mosseae* kolonizovala kořeny rajčete signifikantně méně v přítomnosti saprotrófní houby *T. lanuginosus*. Negativní vliv na kolonizaci kořenů byl pozorován v přítomnosti různých saprotrófních hub, např. *Trichoderma pseudokoningii* (Martinez et al., 2004), *Trichoderma harzanium* (Green et al., 1999) *Alternaria alternata* nebo *Fusarium equiseti* (McAllister et al., 1997). Působení jednotlivých saprotrófních hub na mykorhizní houby je genotypově specifické (Martinez et al., 2004). To bylo potvrzeno i v našem experimentu, kdy při ošetření rostlin rajčete směsí mykorhizních hub k omezení kolonizace saprotrófní houbou *T. lanuginosus* nedocházelo. Zajímavý je také rozdílný vliv saprotrófní houby *Gymnopilus* sp. na kolonizaci kořenů rostlin rajčete mykorhizní houbou *G. mosseae* nebo směsí mykorhizních hub. Naopak kolonizace rostlin póru nebyla průkazně ovlivněna přítomností různých saprotrófních hub, to mohlo být způsobeno rozdílným rostlinným druhem nebo i odlišnou délkou trvání experimentů.

7.2 Přenos dusíku z dodané organické hmoty do rostlin

7.2.1 Metodické přístupy při studiu transportu ^{15}N

Při studiu transportu dusíku mykorhizními houbami do hostitelských rostlin se většinou využívá značení stabilním izotopem dusíku ^{15}N . V experimentech je obvykle prostor obsahující ^{15}N oddělen od kořenů rostlin nylonovou membránou, kterou mohou prorůst mykorhizní hyfy (Ames et al., 1983; Johansen et al., 1992; Tanaka a Yano, 2005). Cílem rozdělení kultivačních nádob je zajištění, aby byl dusík přijímán prostřednictvím mykorhizních hub a ne přímo kořeny rostlin. Řada studií ukázala, že mykorhizní rostliny získávají více dusíku dodaného v organické i anorganické formě do kompartmentu pro ně nepřístupného (Ames et al., 1983; Johansen et al., 1992; Mader et al., 2000; Hodge et al., 2001).

Problémem uspořádání těchto experimentů je detekce stabilního izotopu ^{15}N ve významné míře i v rostlinách bez mykorhizní symbiózy. Dusík je pravděpodobně difúzí nebo hromadným tokem přenesen do kořenového kompartmentu, kde je přímo kořeny rostlin přijímán. Sledované systémy jsou proto uspořádávány tak, aby se samovolnému pohybu dusíku předešlo. Značený zdroj dusíku může být od kořenů rostlin oddělen kromě nylonové membrány ještě několik cm širokým prostorem vyplněným sterilním substrátem, toto uspořádání využili například Ames et al. (1983) nebo Johansen et al. (1992). Jinou možností je oddělení kompartmentů navíc úzkou mezerou vyplněnou vzduchem, která omezí pohyb vody spolu s ionty. Hawkins et al. (2000) oddělili prostory 2 mm tlustou polyvinylchloridovou deskou, v které byly provrtány otvory (5 mm). Tato deska byla z obou stran pokryta nylonovou membránou. Jiným příkladem je experiment autorů Tanaka a Yano (2005), kde byla mezera se vzduchem vytvořena pomocí vložení drátěného síta. Ještě propracovaněji uspořádali systém ve své studii Mader et al. (2000), kteří kromě nylonové membrány použili polytetrafluorethylenovou membránu, která zamezila pohybu vody (v kapalném stavu). Samovolný transport dusíku může být omezen také přidáním inhibitoru nitrifikace, který zajistí, že se dusík ve formě NH_4^+ nebude přeměňován na NO_3^- , který je v půdě více pohyblivý (Johansen et al., 1992). I přes různé komplikované rozdělení kompartmentů v jednotlivých experimentech, bývá patrné obohacení i nemykorhizních rostlin.

7.2.2 Přenos dusíku z dodané organické hmoty a jeho celkový obsah a koncentrace v rostlinách

V našich pilotních experimentech (pokusy 2 a 3, tab. 1) jsme nepozorovali rozdíly v obohacení prýtu póru a listů rajčete dusíkem ^{15}N mezi variantami, které obsahovaly

dodanou značenou biomasu (graf 25). Rostliny rajčete byly kultivovány ve váčku vytvořeném z nylonové membrány, dusík uvolněný z dodaného organického materiálu se proto nezávisle na mykorhizních houbách mohl přesouvat ke kořenům rostlin. Podobně byl uspořádán i experiment autorů Tobar et al. (1994), ve kterém při normální záливce také nebyly zaznamenány rozdíly v obohacení izotopem ^{15}N mezi mykorhizními a nemyorhizními houbami. Pokud ale byly rostliny pěstovány v podmínkách se sníženou dostupností vody, pohyb dusíku nezávislý na mykorhizních houbách byl omezen a bylo patrné vyšší obohacení prýtu i kořene mykorhizních rostlin. Rostliny póru byly od značené biomasy odděleny důkladněji (pokus 3). Přepážka v rhizoboxech obsahovala dvě membrány, mezi kterými byl úzký prostor bez substrátu. I při tomto uspořádání byly rostliny obohacené izotopem ^{15}N nezávisle na inokulaci mykorhizními houbami. Navíc bylo obohacení rostlin v rámci jednotlivých variant velmi variabilní, to může být vysvětleno nestejně dokonalou výrobou přepážky do rhizoboxů. Nylonové membrány byly z obou stran přepážky lepeny ručně a nebyly vždy stejně napnuté, proto se mohlo stát, že se po jejich zasypání substrátem v některých případech dotýkaly a omezovaly tak samovolný pohyb dusíku různou mírou. Podobné obohacení mykorhizních i nemyorhizních rostlin by mohlo být i důsledkem velmi nízké kolonizace kořenů mykorhizními houbami, to je ale v rozporu se studií, ve které došlo ke zvýšení transportu dusíku z organických zdrojů do mykorhizních rostlin, i když se kolonizace kořenů pohybovala kolem 6 % (Ames et al., 1983). Dusík byl do systému přidán v organické formě jako součást rostlinné sušiny, která byla v případě variant obsahujících zároveň saprotrfí houby částečně rozložena. Očekávali jsme proto, že rostliny ošetřené saprotrfí houbou budou obsahovat více izotopu ^{15}N . Konečné obohacení rostlin jednotlivých variant s dodanou značenou organickou hmotou ale nebylo statisticky průkazně ovlivněno ani přítomností saprotrfích hub. Dokonce jsme u těchto variant pozorovali trend snížení. Organická hmota přidaná do substrátu obvykle zvyšuje množství půdních mikroorganismů včetně saprotrfích a mykorhizních hub (Albertsen et al., 2006; Gryndler et al., 2006). Značná část dusíku z organického materiálu je využita mykorhizními houbami (Hodge a Fitter, 2010). Je možné, že organickým materiálem podpořená populace saprotrfích hub imobilizovala dusík ve svém myceliu, a proto byl pozorován trend snížení obohacení izotopem dusíku v listech rajčat a póru.

V následujícím roce (pokusy 4 a 5) jsme se snažili experiment upravit tak, abychom omezili samovolný pohyb dusíku z kompartmentu s dodanou organickou hmotou ke kořenům rostlin. Biomasa byla umístěna u dna dózy a od kořenů rostlin ji

kromě nylonové membrány odděloval i prostor, který obsahoval pouze sterilní substrát. Navíc byla do systému dodávána voda především zaléváním kořenového kompartmentu. V pokusu 4 byl patrný význam saprotrfních hub při rozkládání organické hmoty (graf 28). Všechny varianty, které byly ošetřené saprotrfními houbami *T. lanuginosus* nebo *Gymnopilus* sp., vykazovaly vyšší obohacení izotopem ^{15}N . Protože ale mykorhizní houby neměly na obohacení plodů rajčete vliv, dusík byl pravděpodobně do kořenového kompartmentu opět transportován difúzí nebo hromadným tokem. Rostliny ošetřené pouze mykorhizními houbami nezískaly více ^{15}N než kontrola, to nepřímo poukazuje na skutečnost, že AM houby na rozdíl od ektomykorhizních a erikoidních hub (Talbot a Treseder, 2010) nedokážou ve větší míře štěpit a následně využívat složité organické sloučeniny. Experiment, ve kterém jsme sledovali přenos dusíku do rostlin póru (pokus 5), byl uspořádaný stejně jako experiment s rostlinami rajčete (pokus 4), obohacení nemykorhizních variant bylo stále výrazné, přesto jsme zde sledovali pozitivní vliv duálního ošetření mykorhizními a saprotrfními houbami (graf 28). Ke zvýšení příjmu dusíku z organických zdrojů mineralizovaných půdními mikroorganismy do mykorhizních rostlin došlo v několika experimentech. Například v práci, která sledovala přenos dusíku ze značených listů čiroku do rostlin celeru (*Apium graveolens* L.), bylo výsledné obohacení prýtu i kořene rostlin vyšší při ošetření AM houbou *G. mosseae* (Ames et al., 1983). Podobně i studie autorů Hodge et al. (2001), Hodge a Fitter (2010) a Leigh et al. (2009) ukázaly vyšší transport ^{15}N z organického materiálu (*Lolium perenne* L.) do rostlin jitrocele kolonizovaných mykorhizními houbami *G. hoi* nebo *G. intraradices*. Různé mykorhizní houby jsou v příjmu dusíku z organických zdrojů různě efektivní (Atul-Nayyar et al., 2009; Leigh et al., 2009) a Tu et al. (2006) naznačili, že směs mykorhizních hub je v přenosu dusíku do rostlin účinnější než jednodruhé inokulum. V našem experimentu se ale nelišilo obohacení prýtu póru izotopem ^{15}N u variant inokulovaných mykorhizní houbou *G. mosseae* od těch, které byly ošetřené směsí mykorhizních hub. Byl ale zřejmý rozdílný vliv použitých saprotrfních hub. Průkazně zvýšený příjem dusíku z dodané organické hmoty jsme zaznamenali pouze ve variantách, které byly inokulovány současně mykorhizními houbami a saprotrfní houbou *T. lanuginosus*.

V pilotních experimentech (pokus 2 a 3) půdní mikroorganismy nezměnily obohacení sledovaných rostlin izotopem ^{15}N , na druhou stranu prvkové analýzy odhalily rozdíly v koncentracích dusíku v listech (graf 26). Nižší koncentrace dusíku v listech rajčete při ošetření pouze saprotrfní houbou *Agrocybe* sp. mohla být důsledkem

kompetice mezi rostlinou a saprotrofem (podrobněji diskutováno dále; Moorhead et al., 1998). Listy póru, který byl kultivován s organickou hmotou a bez přítomnosti sledovaných půdních mikroorganismů, vykazovaly vyšší koncentraci dusíku, zatímco koncentrace dusíku ve variantách ošetřených i půdními mikroorganismy není průkazně změněna. Na druhou stranu celkový obsah dusíku v listech póru byl vyšší ve všech variantách s dodanou organickou hmotou a dále u rostlin, které byly inokulovány současně mykorhizními a saprotrofními houbami. Podobně byl změněn i obsah dusíku v kořenech a prýtu jetele v závislosti na dostupnosti organické hmoty (Leigh et al., 2011).

Mikrobiální ošetření neovlivňovalo koncentraci ani celkový obsah dusíku v plodech rajčete (pokus 4; grafy 29 a 30), což je v kontrastu se zjištěním, že přítomnost saprotrofní houby zvýšila příjem dusíku z dodané organické hmoty, pravděpodobně proto bylo v substrátu dostatek živin a rostliny nebyly závislé na dodané organické hmotě.

I když bylo zvýšeno obohacení prýtu póru (pokus 5) stabilním izotopem ^{15}N u variant, které byly ošetřeny mykorhizními houbami a saprotrofní houbou *T. lanuginosus*, nedošlo u nich zároveň ke zvýšení koncentrace celkového dusíku (graf 29). To je v souladu s výsledkem práce autorů Ames et al. (1983), kde také nedošlo k ovlivnění koncentrace dusíku v prýtu celeru, zatímco jeho příjem z přidané organické hmoty byl zvýšen. Podobně nebyla změněna i koncentrace dusíku v prýtu jitrocele (Hodge et al., 2001). Naopak v experimentu autorů Leigh et al. (2009) došlo ke zvýšení obohacení izotopem ^{15}N a také koncentrace dusíku v prýtu jitrocele. Celkový obsah dusíku v prýtu póru byl statisticky významně vyšší u variant, které byly inokulovány mykorhizními houbami a saprotrofní houbou *T. lanuginosus* nebo mykorhizní houbou *G. mosseae* společně s *Gymnopilus* sp. (graf 30). Na rozdíl od našich výsledků nebyl vlivem mykorhizních hub i rozkládané organické hmoty změněn celkový obsah dusíku v prýtu jetele (Hodge et al., 2001; Leigh et al., 2009) nebo v rostlinách celeru (Ames et al., 1983). Rozdílný vliv na množství dusíku v rostlinách je mimo jiné způsoben využitím různých genotypů mykorhizních hub (Atul-Nayyar et al., 2009).

7.2.3 Forma dusíku transportovaného do rostlin

AM houby přijímají dusík nejen jako NO_3^- a NH_4^+ , ale i v anorganické formě (Hawkins et al., 2000; Whiteside et al., 2009). Dusík přijímaný v anorganické formě je do kořenů rostlin transportován jako arginin a před přenosem do kořenových buněk je štěpen na NH_4^+ (Govindarajulu et al., 2005; Jin et al., 2005). Způsob přenosu dusíku v organické formě zatím není znám. Hodge a Fitter (2010) využili duální značení izotopem ^{15}N a ^{13}C pro zjišťování, zda je organický dusík přijímán mykorhizními houbami a transportován do

hostitelských rostlin. Rostlina použitá v našem experimentu jako zdroj živin má C4 metabolismus, zatímco rajče a pór jsou C3 rostliny a vyznačují se proto nižším přirozeným obsahem uhlíku ^{13}C . Pokud by se rostliny jednotlivých variant lišily obohacením izotopy ^{13}C a ^{15}N zároveň, mohlo by to vypovídat o přenosu jednoduchých organických sloučenin dusíku mykorhizními houbami do studovaných rostlin. Analýzy odhalily obohacení plodů rajčete izotopem ^{13}C při ošetření směsí mykorhizních hub a saprotrfí houbou *Gymnopilus* sp., které ale nekoreluje s obohacením ^{15}N . K přenosu dusíku v organické formě až do rostlin pravděpodobně nedochází. Transport organického dusíku mykorhizními houbami do rostlin nebyl pozorován ani v práci autorů Hodge a Fitter (2010), jejich experiment ale neukázal ani obohacení mimokořenového mycelia izotopy ^{13}C a ^{15}N , a tedy příjem dusíku v organické formě mykorhizními houbami. Absence obohacení sledovaných rostlin izotopem ^{13}C nemusí nutně znamenat, že dusíku v organické formě není transportován do rostlin. Taylor et al. (2004) sledovali přenos duálně značeného glycinu ektomykorhizními houbami do semenáčků borovice (*Pinus sylvestris* L.) a ukázalo se, že glycin je pravděpodobně v neporušeném stavu přítomen v kořenech, zatímco obohacení ^{13}C nebylo pozorováno v nadzemní části. V našem experimentu jsme analyzovali izotopové složení pouze v prýtu póru a plodů rajčete.

7.3 Výnosy a růst rostlin

Celková suchá hmotnost rostlin rajčete v pilotním pokusu byla vyšší ve variantách, které obsahovaly saprotrfí houbou *Agrocybe* sp. a organickou hmotu (graf 5). Dodaná organická hmota byla pro rostliny významným zdrojem dusíku a zřejmě i dalších živin. Zvýšení růstu rostlin po přidání organické hmoty pozorovali například i Boddington a Dodd (2000), naopak přidání obilných otrub růst rajčete omezilo (Ravnskov et al., 2006). Saprotrfí houby nezlepšovaly příjem dusíku z organického zdroje, přesto zvýšily růst rostlin možná zpřístupněním jiných živin. Například rostliny pěstované v přítomnosti saprotrfí houby *Clonostachys rosea* vykazovaly vyšší koncentraci fosforu, zatímco koncentrace dusíku nebyla ovlivněna (Ravnskov et al., 2006). Růst rostlin rajčete pozitivně ovlivňovala například i inokulace nemykorhizními houbami *Paecilomyces lilacinus*, *T. harzanium* (Siddiqui a Akhtar, 2008) nebo *C. rosea* (Ravnskov et al., 2006). V některých studiích byl patrný synergický pozitivní vliv na růst rostlin při duální inokulaci saprotrfími a mykorhizními houbami, například Ravnskov et al. (2006) zaznamenali, že suchá hmotnost prýtu ve variantách s dodaným organickým materiálem (obilné otruby) byla vyšší při ošetření AM houbou *G. intraradices* a

saprotrofní houbou *C. roseae*. V našem experimentu se růst rostlin rajčete inokulovaných kombinací mikroorganismů s dodanou organickou hmotou nelišil od jedinců kultivovaných v přítomnosti pouze saprotrofní houby a organické hmoty. Množství studií ukázalo, že inokulace rostlin rajčete mykorhizními houbami zvyšuje jejich růst (např. (Edathil et al., 1996; Bryla a Koide, 1998) a výnosy (Bryla a Koide, 1998; Poulton et al., 2002). My jsme pozitivní vliv mykorhizní symbiózy (bez současného ošetření saprotrofními houbami) na rostliny nepozorovali. Jednotlivé odrůdy rajčete se vyznačují různě velkou závislostí na mykorhize (Bryla a Koide, 1998), chybějící odpověď rostlin na mykorhizu může být způsobena výběrem málo závislé odrůdy. V žádné variantě nedošlo k průkaznému zvýšení výnosů, pouze u rostlin kultivovaných v přítomnosti organické hmoty, saprotrofních hub nebo současně i mykorhizních hub byl zřejmý trend zvýšení sledovaných výnosových parametrů (graf 10 a 11).

Negativní vliv saprotrofní houby *Agrocybe* sp. na čerstvou hmotnost stonku a listů, nástup kvetení (graf 7), počet květenství (graf 9) a sklizňový index (graf 11) rajčete ve variantách bez dodané organické hmoty by mohl být vysvětlen kompeticí o živiny, jejichž koncentrace vzhledem ke složení substrátu (písek a zahradní zemina v poměru 3:1) byla zřejmě nízká. Podobně bylo v experimentu autorů Moorhead et al. (1998) objasňováno snížení růstu rostlin trav v přítomnosti saprotrofních mikroorganismů v podmínkách s nízkou koncentrací živin v půdě, což bylo podpořeno i pozorovaným omezením dekompozice malého množství dodané organické hmoty půdními mikroorganismy. Pokud byly rostliny inokulovány zároveň saprotrofními a mykorhizními houbami (v nepřítomnosti organické hmoty), negativní vliv saprotrofních hub na rostliny rajčete byl potlačen. To je v souladu s pozorováním Moorhead et al. (1998).

Následující rok jsme během pěstování rostlin rajčete (pokus 4) pozorovali, že jedinci ošetření mykorhizními houbami byly po 28 a 43 dnech kultivace vyšší (graf 12). Zdálo se, že mykorhizní houby budou mít pozitivní vliv na růst rostlin rajčete. Po vyhodnocení růstových a výnosových parametrů (grafy 14-16) se ale neobjevily průkazné rozdíly mezi kontrolou a variantami ošetřenými mikroorganismy. Izotopová analýza odhalila vyšší příjem dusíku z organického zdroje rostlinami ošetřenými saprotrofními houbami, celkový obsah a koncentrace dusíku v plodech rajčete se ale nelišil, rostliny tedy patrně získávaly dostatek živin z jiných zdrojů. Zatímco v pilotním pokusu měly rostliny k dispozici 250 ml substrátu, následující rok to bylo 3,5 l, doba pěstování byla přibližně stejně dlouhá, proto se pravděpodobně výsledky experimentů s rostlinami rajčete liší.

V pilotních experimentech (pokus 3) byly čerstvá hmotnost prýtu, obvod prýtu u kořene i počet neodumřelých listů póru pozitivně ovlivněny mykorhizní houbou *G. mosseae* a současně dodanou organickou hmotou. Nárůst suché hmotnosti byl pozorován například i u rostlin póru inokulovaných *G. intraradices* (Milleret et al., 2009), *Glomus* sp. nebo *Scutellospora calospora* (Dickson et al., 1999). Průkazné působení saprotrofních hub na výnosy nebylo zaznamenáno. Naopak v následujícím roce (pokus 5) došlo ke zvýšení suché hmotnosti a dalších růstových parametrů póru při duální inokulaci saprotrofní houbou *T. lanuginosus* společně s *G. mosseae* nebo směsí mykorhizních hub. Pozitivní vliv na rostliny póru byl patrný i při ošetření mykorhizní houbou *G. mosseae* a saprotrofní houbou *Gymnopilus* sp. (grafy 21-24). Inokulace rostlin směsí mykorhizních hub má často lepší výsledky než použití pouze jednodruhového inokula (Edathil et al., 1996; Tu et al., 2006). V našem experimentu se výnosy rostlin kultivovaných v přítomnosti *T. lanuginosus* a jednodruhového nebo směsného inokula nelišily. U variant se saprotrofní houbou *Gymnopilus* sp. bylo dokonce ošetření pouze AM houbou *G. mosseae* účinnější. Možné vysvětlení tohoto jevu je negativní vliv některé složky kombinovaného inokula na saprotrofní houby. Například Tiunov a Scheu (2005) pozorovali omezení výskytu hub *T. harzianum* a *Exophiala* sp. v přítomnosti *G. mosseae* nebo v in vitro experimentu autorů Fillion et al. (1999) došlo k potlačení klíčení spor *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi*.

Některé studie zabývající se vlivem mykorhizních hub na antioxidační aktivitu nastínily možnost jejího zvýšení v mykorhizních rostlinách. Například inokulace rostlin rajčete mykorhizními houbami a současně bakteriemi stimulujícími růst rostlin (PGPR) zvýšila antioxidační aktivitu v plodech (Ordookhani et al., 2010). Vyšší antioxidační aktivita byla zaznamenána také u mykorhizní cibule (Perner et al., 2008), která patří mezi relativně blízké příbuzné póru. Vzhledem k nedostatku materiálu potřebného pro analýzy jsme zjišťovali pouze antioxidační aktivitu póru, žádné rozdíly jsme ale nepozorovali.

8 Souhrn

Hypotéza o zlepšení příjmu živin a výnosových vlastností rajčete a póru vlivem mikrobiální inokulace a dodání organické hmoty byla částečně potvrzena. V pilotních pokusech bylo patrné, že výnosy rostlin ošetřených jedním mikroorganizmem nebo jejich kombinací byly signifikantně vyšší nebo vykazovaly trend zvýšení, na druhou stranu ale mikrobiální inokulace nezvýšila příjem dusíku z dodané organické hmoty, pravděpodobně z důvodu nedokonalého oddělení jednotlivých kompartmentů a následného přenosu dusíku difúzí nebo hromadným tokem. Hypotéza o nejúčinnější kombinaci mykorhizní houba-saprotrofní houba-organická hmota nebyla v prvním roce potvrzena.

Následující rok bylo patrné, že rostliny rajčete získávají více dusíku z dodané organické hmoty při ošetření saprotrofními houbami, jejich růstové a výnosové vlastnosti, i koncentrace a celkový obsah dusíku ale změněny nebyly. Rostliny měly zřejmě k dispozici dostatek živin i z jiných zdrojů. Mikrobiální ošetření nemělo v tomto případě průkazný vliv na příjem dusíku a růst rostlin rajčete.

Nejslibnější výsledky byly zaznamenány u rostlin póru. Inokulace saprotrofní houbou *T. lanuginosus* KGB a mykorhizní houbou *G. mosseae* BEG25 nebo směsí mykorhizních hub zvýšila jednak přenos dusíku z organického zdroje do rostlin a jednak růst a výnosy póru. V tomto dílčím experimentu se potvrdila hypotéza o nejúčinnější kombinaci mykorhizní houba-saprotrofní houba-organická hmota. Navíc bylo ukázáno, že výsledný vliv mikrobiálního ošetření na rostlinu je genotypově specifický.

Provedené pokusy ukázaly, že při vhodné kombinaci mykorhizní houba-saprotrofní houba-organická hmota a při volbě vhodného rostlinného genotypu citlivého vůči tomuto ošetření, má takovýto pěstební postup potenciální praktické využití při produkci zeleniny alternativním způsobem šetrným vůči životnímu prostředí.

V současné době roste poptávka po rostlinných produktech, při jejichž pěstování jsou omezeny chemické vstupy, zejména pesticidy, a které jsou prospěšnější pro lidské zdraví, proto budou i nadále hledány a zdokonalovány postupy, které by tuto poptávku uspokojily.

9 Seznam literatury

- Akkopru A, Demir S** (2005) Biological control of Fusarium wilt in tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* by AMF *Glomus intraradices* and some rhizobacteria. *Journal of Phytopathology* **153**: 544-550
- Al-Karaki GN** (2000) Growth of mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress. *Mycorrhiza* **10**: 51-54
- Albertsen A, Ravnskov S, Green H, Jensen DF, Larsen J** (2006) Interactions between the external mycelium of the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and other soil microorganisms as affected by organic matter. *Soil Biology & Biochemistry* **38**: 1008-1014
- Ames RN** (1989) MYCORRHIZA DEVELOPMENT IN ONION IN RESPONSE TO INOCULATION WITH CHITIN-DECOMPOSING ACTINOMYCETES. *New Phytologist* **112**: 423-427
- Ames RN, Reid CPP, Porter LK, Cambardella C** (1983) HYPHAL UPTAKE AND TRANSPORT OF NITROGEN FROM 2 N-15-LABELED SOURCES BY *GLOMUS-MOSSEAE*, A VESICULAR ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGUS. *New Phytologist* **95**: 381-396
- Aristizabal C, Rivera EL, Janos DP** (2004) Arbuscular mycorrhizal fungi colonize decomposing leaves of *Myrica parvifolia*, *M. pubescens* and *Paepalanthus* sp. *Mycorrhiza* **14**: 221-228
- Aryal UK, Xu HL, Fujita M** (2003) Rhizobia and AM fungal inoculation improve growth and nutrient uptake of bean plants under organic fertilization. *Journal of Sustainable Agriculture* **21**: 29-41
- Atul-Nayyar A, Hamel C, Hanson K, Germida J** (2009) The arbuscular mycorrhizal symbiosis links N mineralization to plant demand. *Mycorrhiza* **19**: 239-246
- Bago B, Pfeffer P, Shachar-Hill Y** (2001) Could the urea cycle be translocating nitrogen in the arbuscular mycorrhizal symbiosis? *New Phytologist* **149**: 4-8
- Bago B, Vierheilig H, Piche Y, AzconAguilar C** (1996) Nitrate depletion and pH changes induced by the extraradical mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* grown in monoxenic culture. *New Phytologist* **133**: 273-280
- Bagyaraj DJ, Menge JA** (1978) INTERACTION BETWEEN A VA-MYCORRHIZA AND AZOTOBACTER AND THEIR EFFECTS ON RHIZOSPHERE MICROFLORA AND PLANT-GROWTH. *New Phytologist* **80**: 567-573
- Barber SA, Walker JM, Vasey EH** (1963) MECHANISMS FOR MOVEMENT OF PLANT NUTRIENTS FROM SOIL AND FERTILIZER TO PLANT ROOT. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **11**: 204-&
- Benzie IFF, Strain JJ** (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry* **239**: 70-76
- Bianciotto V, Bandi C, Minerdi D, Sironi M, Tichy HV, Bonfante P** (1996) An obligately endosymbiotic mycorrhizal fungus itself harbors obligately intracellular bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* **62**: 3005-3010
- Boddington CL, Dodd JC** (2000) The effect of agricultural practices on the development of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi. II. Studies in experimental microcosms. *Plant and Soil* **218**: 145-157
- Borguini RG, Torres E** (2009) Tomatoes and Tomato Products as Dietary Sources of Antioxidants. *Food Reviews International* **25**: 313-325
- Britto DT, Siddiqi MY, Glass ADM, Kronzucker HJ** (2001) Futile transmembrane NH_4^+ cycling: A cellular hypothesis to explain ammonium toxicity in plants.

- Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **98**: 4255-4258
- Bryla DR, Koide RT** (1998) Mycorrhizal response of two tomato genotypes relates to their ability to acquire and utilize phosphorus. *Annals of Botany* **82**: 849-857
- Buchtová I** (2010) Situační a výhledová zpráva – zelenina 2010. Ministerstvo zemědělství České republiky. Praha.
<http://eagri.cz/public/web/file/93826/ZELENINA_12_2010.pdf> (přístup srpen 2011)
- Burleigh SH, Cavagnaro T, Jakobsen I** (2002) Functional diversity of arbuscular mycorrhizas extends to the expression of plant genes involved in P nutrition. *Journal of Experimental Botany* **53**: 1593-1601
- Cappellazzo G, Lanfranco L, Fitz M, Wipf D, Bonfante P** (2008) Characterization of an amino acid permease from the endomycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Plant Physiology* **147**: 429-437
- Carpenterboggs L, Loynachan TE, Stahl PD** (1995) SPORE GERMINATION OF GIGASPORA-MARGARITA STIMULATED BY VOLATILES OF SOIL-ISOLATED ACTINOMYCETES. *Soil Biology & Biochemistry* **27**: 1445-1451
- Cavagnaro TR, Jackson LE, Six J, Ferris H, Goyal S, Asami D, Scow KM** (2006) Arbuscular mycorrhizas, microbial communities, nutrient availability, and soil aggregates in organic tomato production. *Plant and Soil* **282**: 209-225
- Chandanie WA, Kubota M, Hyakumachi M** (2009) Interactions between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* and plant growth-promoting fungi and their significance for enhancing plant growth and suppressing damping-off of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Applied Soil Ecology* **41**: 336-341
- Chen YF, Wang Y, Wu WH** (2008) Membrane transporters for nitrogen, phosphate and potassium uptake in plants. *Journal of Integrative Plant Biology* **50**: 835-848
- Cordier C, Pozo MJ, Barea JM, Gianinazzi S, Gianinazzi-Pearson V** (1998) Cell defense responses associated with localized and systemic resistance to *Phytophthora parasitica* induced in tomato by an arbuscular mycorrhizal fungus. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **11**: 1017-1028
- Dawson TE, Mambelli S, Plamboeck AH, Templer PH, Tu KP** (2002) Stable isotopes in plant ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics* **33**: 507-559
- De Jaeger N, Declerck S, de la Providencia IE** (2010) Mycoparasitism of arbuscular mycorrhizal fungi: a pathway for the entry of saprotrophic fungi into roots. *Fems Microbiology Ecology* **73**: 312-322
- Dickson S, Smith SE, Smith FA** (1999) Characterization of two arbuscular mycorrhizal fungi in symbiosis with *Allium porrum*: colonization, plant growth and phosphate uptake. *New Phytologist* **144**: 163-172
- Diedhiou PM, Hallmann J, Oerke EC, Dehne HW** (2003) Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and a non-pathogenic *Fusarium oxysporum* on *Meloidogyne incognita* infestation of tomato. *Mycorrhiza* **13**: 199-204
- Dietz S, von Bulow J, Beitz E, Nehls U** (2011) The aquaporin gene family of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor*: lessons for symbiotic functions. *New Phytologist* **190**: 927-940
- Dudonne S, Vitrac X, Coutiere P, Woillez M, Merillon JM** (2009) Comparative Study of Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of 30 Plant Extracts of Industrial Interest Using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57**: 1768-1774
- Edathil TT, Manian S, Udaiyan K** (1996) Interaction of multiple VAM fungal species on root colonization, plant growth and nutrient status of tomato seedlings

- (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Agriculture Ecosystems & Environment* **59**: 63-68
- Evans RD** (2001) Physiological mechanisms influencing plant nitrogen isotope composition. *Trends in Plant Science* **6**: 121-126
- FAOSTAT** (2009) FAOSTAT Agricultural Production Database.
<<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>> (přístup srpen 2011)
- Filion M, St-Arnaud M, Fortin JA** (1999) Direct interaction between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and different rhizosphere microorganisms. *New Phytologist* **141**: 525-533
- Fischer WN, Andre B, Rentsch D, Krolkiewicz S, Tegeder M, Breitzkreuz K, Frommer WB** (1998) Amino acid transport in plants. *Trends in Plant Science* **3**: 188-195
- Forde BG** (2000) Nitrate transporters in plants: structure, function and regulation. *Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes* **1465**: 219-235
- Franco-Correa M, Quintana A, Duque C, Suarez C, Rodriguez MX, Barea JM** (2010) Evaluation of actinomycete strains for key traits related with plant growth promotion and mycorrhiza helping activities. *Applied Soil Ecology* **45**: 209-217
- Frey-Klett P, Garbaye J, Tarkka M** (2007) The mycorrhiza helper bacteria revisited. *New Phytologist* **176**: 22-36
- Fritz M, Jakobsen I, Lyngkjaer MF, Thordal-Christensen H, Pons-Kuhnemann J** (2006) Arbuscular mycorrhiza reduces susceptibility of tomato to *Alternaria solani*. *Mycorrhiza* **16**: 413-419
- Gamalero E, Trotta A, Massa N, Copetta A, Martinotti MG, Berta G** (2004) Impact of two fluorescent pseudomonads and an arbuscular mycorrhizal fungus on tomato plant growth, root architecture and P acquisition. *Mycorrhiza* **14**: 185-192
- Garcia-Romera I, Garcia-Garrido JM, Martin J, Fracchia S, Mujica MT, Godeas A, Ocampo JA** (1998) Interactions between Saprotrophic *Fusarium* strains and arbuscular mycorrhizas of soybean plants. *Symbiosis* **24**: 235-245
- Giovannetti M, Mosse B** (1980) EVALUATION OF TECHNIQUES FOR MEASURING VESICULAR ARBUSCULAR MYCORRHIZAL INFECTION IN ROOTS. *New Phytologist* **84**: 489-500
- Glass ADM** (2003) Nitrogen use efficiency of crop plants: Physiological constraints upon nitrogen absorption. *Critical Reviews in Plant Sciences* **22**: 453-470
- Glass ADM, Brito DT, Kaiser BN, Kronzucker HJ, Kumar A, Okamoto M, Rawat SR, Siddiqi MY, Silim SM, Vidmar JJ, Zhuo D** (2001) Nitrogen transport in plants, with an emphasis on the regulation of fluxes to match plant demand. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science-Zeitschrift Fur Pflanzenernahrung Und Bodenkunde* **164**: 199-207
- Gosling P, Hodge A, Goodlass G, Bending GD** (2006) Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. *Agriculture Ecosystems & Environment* **113**: 17-35
- Govindarajulu M, Pfeffer PE, Jin HR, Abubaker J, Douds DD, Allen JW, Bucking H, Lammers PJ, Shachar-Hill Y** (2005) Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Nature* **435**: 819-823
- Green H, Larsen J, Olsson PA, Jensen DF, Jakobsen I** (1999) Suppression of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* by mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* in root-free soil. *Applied and Environmental Microbiology* **65**: 1428-1434
- Gryndler M, Baláž M, Hršelová H, Jansa J, Vosátka M** (2004) Mykorhizní symbióza. O soužití hub s kořeny rostlin. Academia. Praha.
- Gryndler M, Hršelova H, Cajthaml T, Havrankova M, Rezacova V, Gryndlerova H, Larsen J** (2009) Influence of soil organic matter decomposition on arbuscular

- mycorrhizal fungi in terms of asymbiotic hyphal growth and root colonization. *Mycorrhiza* **19**: 255-266
- Gryndler M, Larsen J, Hrselova H, Rezacova V, Gryndlerova H, Kubat J** (2006) Organic and mineral fertilization, respectively, increase and decrease the development of external mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi in a long-term field experiment. *Mycorrhiza* **16**: 159-166
- Gryndler M, Vosatka M, Hrselova H, Catska V, Chvatalova I, Jansa J** (2002) Effect of dual inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria on growth and mineral nutrition of strawberry. *Journal of Plant Nutrition* **25**: 1341-1358
- Hawkins HJ, Johansen A, George E** (2000) Uptake and transport of organic and inorganic nitrogen by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* **226**: 275-285
- He XH, Xu MG, Qiu GY, Zhou JB** (2009) Use of (15)N stable isotope to quantify nitrogen transfer between mycorrhizal plants. *Journal of Plant Ecology-Uk* **2**: 107-118
- Hildebrandt U, Schmelzer E, Bothe H** (2002) Expression of nitrate transporter genes in tomato colonized by an arbuscular mycorrhizal fungus. *Physiologia Plantarum* **115**: 125-136
- Hiltner L** (1994). Citováno podle **Rambelli A** (1973) *The Rhizosphere of Mycorrhizae*. V: Marks GC, Kozlowski TT (eds.): *Ectomycorrhizae. Their Ecology and Physiology*. Academic Press. New York and London. 299-349
- Hoagland DR, Amon DI** (1950) The water-culture method for growing plants without soil. Circular 347 of University of California, Agricultural Experimental Station Berkley.
- Hodge A, Campbell CD, Fitter AH** (2001) An arbuscular mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material. *Nature* **413**: 297-299
- Hodge A, Fitter AH** (2010) Substantial nitrogen acquisition by arbuscular mycorrhizal fungi from organic material has implications for N cycling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **107**: 13754-13759
- Hodge A, Stewart J, Robinson D, Griffiths BS, Fitter AH** (2000) Competition between roots and soil micro-organisms for nutrients from nitrogen-rich patches of varying complexity. *Journal of Ecology* **88**: 150-164
- Howitt SM, Udvardi MK** (2000) Structure, function and regulation of ammonium transporters in plants. *Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes* **1465**: 152-170
- Jackson LE, Burger M, Cavagnaro TR** (2008) Roots nitrogen transformations, and ecosystem services. *Annual Review of Plant Biology* **59**: 341-363
- Jin H, Pfeffer PE, Douds DD, Piotrowski E, Lammers PJ, Shachar-Hill Y** (2005) The uptake, metabolism, transport and transfer of nitrogen in an arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist* **168**: 687-696
- Johansen A, Jakobsen I, Jensen ES** (1992) HYPHAL TRANSPORT OF N-15-LABELED NITROGEN BY A VESICULAR-ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGUS AND ITS EFFECT ON DEPLETION OF INORGANIC SOIL-N. *New Phytologist* **122**: 281-288
- Johansson JF, Paul LR, Finlay RD** (2004) Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *Fems Microbiology Ecology* **48**: 1-13
- Jones DL, Healey JR, Willett VB, Farrar JF, Hodge A** (2005) Dissolved organic nitrogen uptake by plants - an important N uptake pathway? *Soil Biology & Biochemistry* **37**: 413-423

- Karagiannidis N, Bletsos F, Stavropoulos N** (2002) Effect of *Verticillium* wilt (*Verticillium dahliae* Kleb.) and mycorrhiza (*Glomus mosseae*) on root colonization, growth and nutrient uptake in tomato and eggplant seedlings. *Scientia Horticulturae* **94**: PII S0304-4238(0301)00336-00333
- Kaur C, Kapoor HC** (2001) Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health. *International Journal of Food Science and Technology* **36**: 703-725
- Kim K, Yim W, Trivedi P, Madhaiyan M, Boruah HPD, Islam MR, Lee G, Sa T** (2010) Synergistic effects of inoculating arbuscular mycorrhizal fungi and *Methylobacterium oryzae* strains on growth and nutrient uptake of red pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant and Soil* **327**: 429-440
- Kim KY, Jordan D, McDonald GA** (1998) Effect of phosphate-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizae on tomato growth and soil microbial activity. *Biology and Fertility of Soils* **26**: 79-87
- Klironomos JN, Bednarczuk EM, Neville J** (1999) Reproductive significance of feeding on saprobic and arbuscular mycorrhizal fungi by the collembolan, *Folsomia candida*. *Functional Ecology* **13**: 756-761
- Kobae Y, Tamura Y, Takai S, Banba M, Hata S** (2010) Localized Expression of Arbuscular Mycorrhiza-Inducible Ammonium Transporters in Soybean. *Plant and Cell Physiology* **51**: 1411-1415
- Koske RE, Gemma JN** (1989) A MODIFIED PROCEDURE FOR STAINING ROOTS TO DETECT VA-MYCORRHIZAS. *Mycological Research* **92**: 486-505
- Larsen J, Jakobsen I** (1996) Effects of a mycophagous Collembola on the symbioses between *Trifolium subterraneum* and three arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* **133**: 295-302
- Latef A, He CX** (2011) Arbuscular mycorrhizal influence on growth, photosynthetic pigments, osmotic adjustment and oxidative stress in tomato plants subjected to low temperature stress. *Acta Physiologiae Plantarum* **33**: 1217-1225
- Lauter FR, Ninnemann O, Bucher M, Riesmeier JW, Frommer WB** (1996) Preferential expression of an ammonium transporter and of two putative nitrate transporters in root hairs of tomato. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **93**: 8139-8144
- Lawrence B, Fisk MC, Fahey TJ, Suarez ER** (2003) Influence of nonnative earthworms on mycorrhizal colonization of sugar maple (*Acer saccharum*). *New Phytologist* **157**: 145-153
- Leake JR, Johnson D, Donnelly DP, Muckle GE, Boddy L, Read DJ** (2004) Networks of power and influence: the role of mycorrhizal mycelium in controlling plant communities and agroecosystem functioning. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique* **82**: 1016-1045
- Leigh J, Fitter AH, Hodge A** (2011) Growth and symbiotic effectiveness of an arbuscular mycorrhizal fungus in organic matter in competition with soil bacteria. *Fems Microbiology Ecology* **76**: 428-438
- Leigh J, Hodge A, Fitter AH** (2009) Arbuscular mycorrhizal fungi can transfer substantial amounts of nitrogen to their host plant from organic material. *New Phytologist* **181**: 199-207
- Linderman RG** (1988) MYCORRHIZAL INTERACTIONS WITH THE RHIZOSPHERE MICROFLORA - THE MYCORRHIZOSPHERE EFFECT. *Phytopathology* **78**: 366-371
- Liu Y, Zhu YG, Chen BD, Christie P, Li XL** (2005) Yield and arsenate uptake of arbuscular mycorrhizal tomato colonized by *Glomus mosseae* BEG167 in As spiked soil under glasshouse conditions. *Environment International* **31**: 867-873

- Lopez-Pedrosa A, Gonzalez-Guerrero M, Valderas A, Azcon-Aguilar C, Ferrol N** (2006) GintAMT1 encodes a functional high-affinity ammonium transporter that is expressed in the extraradical mycelium of *Glomus intraradices*. *Fungal Genetics and Biology* **43**: 102-110
- Mader P, Vierheilig H, Streitwolf-Engel R, Boller T, Frey B, Christie P, Wiemken A** (2000) Transport of N-15 from a soil compartment separated by a polytetrafluoroethylene membrane to plant roots via the hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* **146**: 155-161
- Maheshwari R, Bharadwaj G, Bhat MK** (2000) Thermophilic fungi: Their physiology and enzymes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **64**: 461-+
- Marschner P, Crowley DE, Lieberei R** (2001) Arbuscular mycorrhizal infection changes the bacterial 16 S rDNA community composition in the rhizosphere of maize. *Mycorrhiza* **11**: 297-302
- Martinez A, Obertello M, Pardo A, Ocampo JA, Godeas A** (2004) Interactions between *Trichoderma pseudokoningii* strains and the arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus mosseae* and *Gigaspora rosea*. *Mycorrhiza* **14**: 79-84
- Masadeh B, von Alten H, Grunewaldt-Stoecker G, Sikora RA** (2004) Biocontrol of root-knot nematodes using the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and the antagonist *Trichoderma viride* in two tomato cultivars differing in their suitability as hosts for the nematodes. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection* **111**: 322-333
- McAllister CB, GarciaGarrido JM, GarciaRomera I, Godeas A, Ocampo JA** (1997) Interaction between *Alternaria alternata* or *Fusarium equiseti* and *Glomus mosseae* and its effects on plant growth. *Biology and Fertility of Soils* **24**: 301-305
- Milleret R, Le Bayon RC, Gobat JM** (2009) Root, mycorrhiza and earthworm interactions: their effects on soil structuring processes, plant and soil nutrient concentration and plant biomass. *Plant and Soil* **316**: 1-12
- Miransari M** (2011) Arbuscular mycorrhizal fungi and nitrogen uptake. *Archives of Microbiology* **193**: 77-81
- Moorhead DL, Westerfield MM, Zak JC** (1998) Plants retard litter decay in a nutrient-limited soil: a case of exploitative competition? *Oecologia* **113**: 530-536
- Moravec J** (1999) Pór. V: Zahradnický slovník naučný. 4. díl. Ústav zemědělských a potravinářských informací. Praha. 434.
- Mwangi MW, Monda EO, Okoth SA, Jefwa JM** (2011) INOCULATION OF TOMATO SEEDLINGS WITH TRICHODERMA HARZIANUM AND ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI AND THEIR EFFECT ON GROWTH AND CONTROL OF WILT IN TOMATO SEEDLINGS. *Brazilian Journal of Microbiology* **42**: 508-513
- Nagy R, Drissner D, Amrhein N, Jakobsen I, Bucher M** (2009) Mycorrhizal phosphate uptake pathway in tomato is phosphorus-repressible and transcriptionally regulated. *New Phytologist* **181**: 950-959
- Nehl DB, Allen SJ, Brown JF** (1997) Deleterious rhizosphere bacteria: An integrating perspective. *Applied Soil Ecology* **5**: 1-20
- Ngosong C, Jarosch M, Raupp J, Neumann E, Ruess L** (2010) The impact of farming practice on soil microorganisms and arbuscular mycorrhizal fungi: Crop type versus long-term mineral and organic fertilization. *Applied Soil Ecology* **46**: 134-142
- Omar SA** (1998) The role of rock-phosphate-solubilizing fungi and vesicular-arbuscular-mycorrhiza (VAM) in growth of wheat plants fertilized with rock phosphate. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* **14**: 211-218

- Ono F, Frommer WB, von Wiren N** (2000) Coordinated diurnal regulation of low- and high-affinity nitrate transporters in tomato. *Plant Biology* **2**: 17-23
- Ordookhani K, Khavazi K, Moezzi A, Rejali F** (2010) Influence of PGPR and AMF on antioxidant activity, lycopene and potassium contents in tomato. *African Journal of Agricultural Research* **5**: 1108-1116
- Ortiz-Ceballos AI, Pena-Cabriaes JJ, Fragoso C, Brown GG** (2007) Mycorrhizal colonization and nitrogen uptake by maize: combined effect of tropical earthworms and velvetbean mulch. *Biology and Fertility of Soils* **44**: 181-186
- Perner H, Rohn S, Driemel G, Batt N, Schwarz D, Kroh LW, George E** (2008) Effect of nitrogen species supply and mycorrhizal colonization on organosulfur and phenolic compounds in onions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**: 3538-3545
- Plenchette C, Clermont-Dauphin C, Meynard JM, Fortin JA** (2005) Managing arbuscular mycorrhizal fungi in cropping systems. *Canadian Journal of Plant Science* **85**: 31-40
- Poulton JL, Bryla D, Koide RT, Stephenson AG** (2002) Mycorrhizal infection and high soil phosphorus improve vegetative growth and the female and male functions in tomato. *New Phytologist* **154**: 255-264
- Poulton JL, Koide RT, Stephenson AG** (2001) Effects of mycorrhizal infection and soil phosphorus availability on in vitro and in vivo pollen performance in *Lycopersicon esculentum* (Solanaceae). *American Journal of Botany* **88**: 1786-1793
- Rambelli A** (1973) The Rhizosphere of Mycorrhizae. V: Marks GC, Kozlowski TT (eds.): *Ectomycorrhizae. Their Ecology and Physiology*. Academic Press. New York and London. 299-349
- Ravnskov S, Jensen B, Knudsen IMB, Bodker L, Jensen DF, Karlinski L, Larsen J** (2006) Soil inoculation with the biocontrol agent *Clonostachys rosea* and the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* results in mutual inhibition, plant growth promotion and alteration of soil microbial communities. *Soil Biology & Biochemistry* **38**: 3453-3462
- Regvar M, Vogel-Mikus K, Severkar T** (2003) Effect of AMF inoculum from field isolates on the yield of green pepper, parsley, carrot, and tomato. *Folia Geobotanica* **38**: 223-234
- Remy W, Taylor TN, Hass H, Kerp H** (1994) 4-HUNDRED-MILLION-YEAR-OLD VESICULAR-ARBUSCULAR MYCORRHIZAE. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **91**: 11841-11843
- Ren LX, Lou YS, Sakamoto K, Inubushi K, Amemiya Y, Shen QR, Xu GH** (2010) Effects of Arbuscular Mycorrhizal Colonization on Microbial Community in Rhizosphere Soil and Fusarium Wilt Disease in Tomato. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* **41**: 1399-1410
- Rillig MC** (2004) Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. *Canadian Journal of Soil Science* **84**: 355-363
- Rumbos C, Reimann S, Kiewnick S, Sikora RA** (2006) Interactions of *Paecilomyces lilacinus* strain 251 with the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*: Implications for *Meloidogyne incognita* control on tomato. *Biocontrol Science and Technology* **16**: 981-986
- Sawers RJH, Gutjahr C, Paszkowski U** (2008) Cereal mycorrhiza: an ancient symbiosis in modern agriculture. *Trends in Plant Science* **13**: 93-97
- Schliemann W, Kolbe B, Schmidt J, Nimtz M, Wray V** (2008) Accumulation of apocarotenoids in mycorrhizal roots of leek (*Allium porrum*). *Phytochemistry* **69**: 1680-1688

- Schussler A, Schwarzott D, Walker C** (2001) A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research* **105**: 1413-1421
- Siddiqui ZA, Akhtar MS** (2008) Synergistic effects of antagonistic fungi and a plant growth promoting rhizobacterium, an arbuscular mycorrhizal fungus, or composted cow manure on populations of *Meloidogyne incognita* and growth of tomato. *Biocontrol Science and Technology* **18**: 279-290
- Siddiqui ZA, Mahmood I** (1998) Effect of a plant growth promoting bacterium, an AM fungus and soil types on the morphometrics and reproduction of *Meloidogyne javanica* on tomato. *Applied Soil Ecology* **8**: 77-84
- Simon L, Bousquet J, Levesque RC, Lalonde M** (1993) ORIGIN AND DIVERSIFICATION OF ENDOMYCORRHIZAL FUNGI AND COINCIDENCE WITH VASCULAR LAND PLANTS. *Nature* **363**: 67-69
- Smith SE, Smith FA, Jakobsen I** (2004) Functional diversity in arbuscular mycorrhizal (AM) symbioses: the contribution of the mycorrhizal P uptake pathway is not correlated with mycorrhizal responses in growth or total P uptake. *New Phytologist* **162**: 511-524
- Sorensen JN, Larsen J, Jakobsen I** (2008) Pre-inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi increases early nutrient concentration and growth of field-grown leeks under high productivity conditions. *Plant and Soil* **307**: 135-147
- Srivastava R, Khalid A, Singh US, Sharma AK** (2010) Evaluation of arbuscular mycorrhizal fungus, fluorescent *Pseudomonas* and *Trichoderma harzianum* formulation against *Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici* for the management of tomato wilt. *Biological Control* **53**: 24-31
- Subramanian KS, Santhanakrishnan P, Balasubramanian P** (2006) Responses of field grown tomato plants to arbuscular mycorrhizal fungal colonization under varying intensities of drought stress. *Scientia Horticulturae* **107**: 245-253
- Talbot JM, Treseder KK** (2010) Controls over mycorrhizal uptake of organic nitrogen. *Pedobiologia* **53**: 169-179
- Tanaka Y, Yano K** (2005) Nitrogen delivery to maize via mycorrhizal hyphae depends on the form of N supplied. *Plant Cell and Environment* **28**: 1247-1254
- Tarafdar JC, Marschner H** (1995) DUAL INOCULATION WITH *ASPERGILLUS-FUMIGATUS* AND *GLOMUS-MOSSEAE* ENHANCES BIOMASS PRODUCTION AND NUTRIENT-UP TAKE IN WHEAT (*TRITICUM-AESTIVUM* L) SUPPLIED WITH ORGANIC PHOSPHORUS AS NA-PHYTATE. *Plant and Soil* **173**: 97-102
- Taylor AFS, Gebauer G, Read DJ** (2004) Uptake of nitrogen and carbon from double-labelled (N-15 and C-13) glycine by mycorrhizal pine seedlings. *New Phytologist* **164**: 383-388
- Tibbett M** (2000) Roots, foraging and the exploitation of soil nutrient patches: the role of mycorrhizal symbiosis. *Functional Ecology* **14**: 397-399
- Tiunov AV** (2007) Stable isotopes of carbon and nitrogen in soil ecological studies. *Biology Bulletin* **34**: 395-407
- Tiunov AV, Scheu S** (2005) Arbuscular mycorrhiza and Collembola interact in affecting community composition of saprotrophic microfungi. *Oecologia* **142**: 636-642
- Tobar R, Azcon R, Barea JM** (1994) IMPROVED NITROGEN UPTAKE AND TRANSPORT FROM N-15-LABELED NITRATE BY EXTERNAL HYPHAE OF ARBUSCULAR MYCORRHIZA UNDER WATER-STRESSED CONDITIONS. *New Phytologist* **126**: 119-122
- Treseder KK** (2004) A meta-analysis of mycorrhizal responses to nitrogen, phosphorus, and atmospheric CO₂ in field studies. *New Phytologist* **164**: 347-355

- Treseder KK, Allen MF** (2002) Direct nitrogen and phosphorus limitation of arbuscular mycorrhizal fungi: a model and field test. *New Phytologist* **155**: 507-515
- Tu C, Booker FL, Watson DM, Chen X, Rufty TW, Shi W, Hu SJ** (2006) Mycorrhizal mediation of plant N acquisition and residue decomposition: Impact of mineral N inputs. *Global Change Biology* **12**: 793-803
- Tuffen F, Eason WR, Scullion J** (2002) The effect of earthworms and arbuscular mycorrhizal fungi on growth of and P-32 transfer between *Allium porrum* plants. *Soil Biology & Biochemistry* **34**: PII S0038-0717(0002)00036-00036
- Utkhede R** (2006) Increased growth and yield of hydroponically grown greenhouse tomato plants inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and *Fusarium oxysporum* f. *Sp radicis-lycopersici*. *Biocontrol* **51**: 393-400
- Vestberg A, Kukkonen S, Saari K, Parikka P, Huttunen J, Tainio L, Devos D, Weekers F, Kevers C, Thonart P, Lemoine MC, Cordier C, Alabouvette C, Gianinazzi S** (2004) Microbial inoculation for improving the growth and health of micropropagated strawberry. *Applied Soil Ecology* **27**: 243-258
- von Wiren N, Lauter FR, Ninnemann O, Gillissen B, Walch-Liu P, Engels C, Jost W, Frommer WB** (2000) Differential regulation of three functional ammonium transporter genes by nitrogen in root hairs and by light in leaves of tomato. *Plant Journal* **21**: 167-175
- Vosátka M, Albrechtová J** (2008) Theoretical Aspects and Practical Uses of Mycorrhizal Technology in Floriculture and Horticulture. V: Teixeira da Silva JA (ed.): *Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology: Advances and Topical Issues*, Global Science Books. Isleworth. UK. 466-479.
- Vosatka M, Gryndler M** (1999) Treatment with culture fractions from *Pseudomonas putida* modifies the development of *Glomus fistulosum* mycorrhiza and the response of potato and maize plants to inoculation. *Applied Soil Ecology* **11**: 245-251
- Watkins NK, Fitter AH, Graves JD, Robinson D** (1996) Carbon transfer between C-3 and C-4 plants linked by a common mycorrhizal network, quantified using stable carbon isotopes. *Soil Biology & Biochemistry* **28**: 471-477
- Weigelt A, King R, Bol R, Bardgett RD** (2003) Inter-specific variability in organic nitrogen uptake of three temperate grassland species. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science-Zeitschrift Fur Pflanzenernahrung Und Bodenkunde* **166**: 606-611
- Whiteside MD, Treseder KK, Atsatt PR** (2009) The brighter side of soils: Quantum dots track organic nitrogen through fungi and plants. *Ecology* **90**: 100-108
- ZhongQun H, ChaoXing H, ZhiBin Z, ZhiRong Z, HuaiSong W** (2007) Changes of antioxidative enzymes and cell membrane osmosis in tomato colonized by arbuscular mycorrhizae under NaCl stress. *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces* **59**: 128-133
- Zhou Y, Zhuang W, Hu W, Liu GJ, Wu TX, Wu XT** (2011) Consumption of Large Amounts of *Allium* Vegetables Reduces Risk for Gastric Cancer in a Meta-analysis. *Gastroenterology* **141**: 80-89